

پژوهش‌های حبوبات ایران

ISSN 2008-725X

دوفصلنامه علمی-پژوهشی

پژوهش‌های علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

جلد ۸، شماره ۲، نیمه دوم ۱۳۹۶ - شماره پیاپی: ۱۶



باجکاری



دانشگاه صنعتی اصفهان



دانشگاه تربیت مدرس



دانشگاه شهید بهشتی تهران



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی کرمان



دانشگاه علوم پزشکی تبریز



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی مازندران

- بررسی و مقایسه سناریوهای مختلف اقتصادی و زیست‌محیطی از طریق بهینه‌سازی مصرف سوپر جاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی در زراعت لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)
- بررسی الگوی بیان ژن‌های *P5CS* و *CBF* تحت تنش یخ‌زدگی و اثر خوسرمایی بر تغییرات میزان پرولین آزاد در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.)
- بهبود خصوصیات کیفی دو رقم لوبیا با مصرف تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی فسفاتی و روی
- اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر کلروفیل، عملکرد و اجزای عملکرد عدس (*Lens culinaris* Medik.)
- بررسی صفات و تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت شرایط نرمال و تنش خشکی
- بهینه‌سازی انتقال ژن به عدس (*Lens culinaris* Medik.) با استفاده از آگروباکتریوم
- اثر مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش (*Vigna radiate*)
- بررسی اثر تلقیح بذور نخود با ریزوبیوم، میکوریزای آرباسکولار و شبه میکوریزای داخلی بر عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.)
- تأثیر امواج فراصوت و پرایمینگ بذر در تلفیق با مدیریت علف‌های هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیاچشم‌بلی (*Vigna sinensis* L.)

(فهرست کامل، داخل نشریه...)

پژوهش‌های حبوبات ایران

فهرست مقالات

جلد ۸، شماره ۲، نیمه دوم ۱۳۹۶، شماره پیاپی: ۱۶

عنوان مقاله	نویسنده (گان)	صفحه
• بررسی و مقایسه سناریوهای مختلف اقتصادی و زیست‌محیطی از طریق بهینه‌سازی مصرف سوپر جاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی در زراعت لوبیا (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	محسن جهان، محمدبهزاد امیری و فرانک نوربخش	۱۰
• بررسی الگوی بیان ژن‌های <i>P5CS</i> و <i>CBF</i> تحت تنش یخ‌زدگی و اثر خوسرمایی بر تغییرات میزان پرولین آزاد در گیاه نخود (<i>Cicer arietinum</i> L.)	روح‌الله قاسمی، عبدالرضا باقری، نسرین مشتاقی و فرهاد شکوهی‌فر	۳۱
• بهبود خصوصیات کیفی دو رقم لوبیا با مصرف تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی فسفاتی و روی	محمود محمدی، کاظم خاوازی، محمدجعفر ملکوتی و فرهاد رجالی	۴۴
• اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر کلروفیل، عملکرد و اجزای عملکرد عدس (<i>Lens culinaris</i> Medik)	حسین نوری، پیام معاونی و میلاد سلطانیه	۵۷
• بررسی صفات و تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) تحت شرایط نرمال و تنش خشکی	فاطمه قراجه‌داغی، محمدرضا بی‌همتا، سیدعلی پیغمبری و مریم رضایی‌نیا	۶۹
• بهینه‌سازی انتقال ژن به عدس (<i>Lens culinaris</i> Medik.) با استفاده از آگروباکتریوم	فاطمه ذاکر تولایی، عبدالرضا باقری، بهزاد قره‌یاضی و کایران کمار شارما	۸۴
• اثر مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش (<i>Vigna radiate</i>)	فاطمه خمدی، موسی مسگرباشی، پیمان حسینی، معصومه فرزانه و نعیمه عنایتی‌ضمیر	۹۶
• بررسی اثر تلقیح بذور نخود با ریزوبیوم، میکوریزای آرباسکولار و شبه میکوریزای داخلی بر عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های نخود (<i>Cicer arietinum</i> L.)	محمدجواد ارشدی، مهدی پارسا، امیر لکزیان و محمد کافی	۱۰۹
• تأثیر امواج فراصوت و پرایمینگ بذر در تلفیق با مدیریت علف‌های هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیاچشم‌بلبلی (<i>Vigna sinensis</i> L.)	عباس نصیری دهرسخی، حسن مکاریان، منوچهر قلی‌پور و حمید عباس‌دخت	۱۲۶
• بررسی اثر قطع آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و کیفی لوبیاقرمز رقم D81083	تبسم قدیمیان، حمید مدنی و مسعود گماریان	۱۴۱
• ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های لوبیاچیتی (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) مناسب جهت کشت در بوم‌نظام‌های کم‌نهاده با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنش	عادل غدیری، پرویز رضوانی‌مقدم، عبدالرضا باقری، رضا قربانی و علیرضا بهشتی	۱۵۵

عنوان مقاله	نویسنده(گان)	صفحه
• تأثیر تغذیه برگی میکرو و نانو ذرات عنصر روی بر برخی صفات رشدی و کیفی ماش (<i>Vigna radiata</i> L.) در شرایط تنش خشکی	حسن مکاریان، حسن شجاعی، علی دماوندی، عباس نصیری دهسرخي و احمد اخيانی	۱۶۶
• بررسی بیوانفورماتیکی و جداسازی پروموتر بتافازئولین از لوبیا (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	ادريس چوپانی، خدیجه باقری و بهرام ملکی زنجانى	۱۸۱
• اثر نسبت‌های جایگزینی کشت مخلوط ذرت شیرین (<i>Zea mays</i> L.) با ارقام لوبیا (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) بر عملکرد و اجزای عملکرد	قربانعلی اسدی، سرور خرم‌دل، روشنک شهریارى، فاطمه رنجبر و مهسا اقحوانى شجرى	۱۹۲
• بررسی تأثیر برخی علف‌کش‌های پس‌رویشی بر مدیریت علف‌های هرز و صفات مربوط به عملکرد در باقلا (<i>Vicia faba</i>)	زينب بوعلی و سعيد سعیدی‌پور	۲۰۵

سخن سردبیر

حبوبات به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین، دوّمین منبع مهم غذایی انسان پس از غلات، به‌شمار می‌روند. این گیاهان با داشتن قابلیت تثبیت زیستی نیتروژن، نقش درخور توجهی در بهبود حاصلخیزی خاک دارند. حبوبات در تناوب با بسیاری از گیاهان زراعی، کشت‌وکار می‌شوند و بدین‌ترتیب، با تنوع‌بخشی به نظام‌های کشت مبتنی بر غلات، جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی پایدار به خود اختصاص داده‌اند. این گیاهان، کم‌توقع بوده و برای کشت در نظام‌های زراعی کم‌نهاد مناسب می‌باشند. همچنین به صورت گیاهان پوششی، در جلوگیری از فرسایش خاک مؤثرند. مجموعه این ویژگی‌ها، حبوبات را از جنبه‌های زراعی، بوم‌شناختی و زیست‌محیطی در جایگاه ارزشمندی قرار داده است.

حبوبات در ایران پس از غلات، بیشترین سطح زیرکشت را دارا هستند. بر اساس آمار، سالانه سطحی حدود یک میلیون و دویست هزار هکتار در کشور به کشت حبوبات اختصاص می‌یابد که از این سطح، سالانه حدود ۷۰۰ هزار تن محصول به‌دست می‌آید. نگاهی اجمالی به آمار تولید و سطح زیرکشت این محصولات در ایران و مقایسه آن با آمار جهانی نشان می‌دهد که بازده تولید این محصولات در کشور ما، بسیار ناچیز بوده و گاه با نوسانات شدیدی همراه است. هرچند بخشی از پایین‌بودن بازده تولید این محصولات را می‌توان به وضعیت ویژه طبیعی و اقلیمی کشور مربوط دانست، اما علت دیگر آن را باید در بی‌توجهی به سرمایه‌گذاری‌های مرتبط با تولید، به‌ویژه فقر تحقیقات حبوبات جستجو کرد. این کم‌توجهی‌ها سبب شده است تا کشت بعضی محصولات زراعی مانند غلات و محصولات نقدینه‌ای، جایگزین کشت حبوبات در اراضی مرغوب شده و لذا کشت حبوبات، بیش‌ازپیش به مناطق حاشیه‌ای و کم‌بازده رانده شود. این وضعیت، چالشی بزرگ را فراروی مجموعه برنامه‌ریزان، سیاست‌گزاران و نیز محققان حبوبات در کشور قرار داده است.

اهمیت حیاتی این محصولات، به‌ویژه از نظر تأمین نیازهای پروتئینی کشور و نیز حفظ بوم‌نظام‌های طبیعی ایجاب می‌کند تا به امر پژوهش‌های دامنه‌دار پیرامون جنبه‌های مختلف تولید این محصولات، به‌منظور پاسخ‌گویی به نیازهای جدید، به‌صورت ویژه‌ای پرداخته شود. نکته مهمی که در طراحی و اجرای برنامه‌های تحقیقات حبوبات باید همواره مدّ نظر باشد، قرارداشتن کشور در وضعیت طبیعی و اقلیمی خشک است؛ به‌طوری که بیش از ۹۰ درصد از تولید حبوبات در کشور ما در شرایط دیم با بارش‌های بسیار اندک انجام می‌شود. بدین‌ترتیب، انطباق با این شرایط خشک، ضمن حفظ پایداری تولید، باید به‌عنوان یکی از اصول بنیادین در تدوین و اتخاذ سیاست‌ها و خط‌مشی‌های تحقیقاتی در رابطه با حبوبات، مدّ نظر قرار بگیرد.

به‌هر حال، تعیین یک راهبرد واحد، هماهنگی و انسجام بین مراکز علمی و تحقیقاتی و نیز تبادل اطلاعات و تجارب به‌دست‌آمده بین محققان در مراکز مختلف، عواملی هستند که ما را در رسیدن به اهداف بلندمدت تحقیقات حبوبات یاری خواهند کرد. در این راستا، پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، با همکاری مراکز دانشگاهی و تحقیقاتی کشور نشریه علمی پژوهشی "پژوهش‌های حبوبات ایران" را با هدف انتشار دستاوردهای حاصل از تحقیقات حبوبات پژوهشگران کشور، آغاز کرده است. امید است این اقدام، بستر مناسبی را جهت شکل‌گیری فضای تعامل علمی و رشد قابلیت‌های محققان این عرصه فراهم آورد.



پژوهش‌های حبوبات ایران

دوفصلنامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

معرفی نشریه، فراخوان و شرایط پذیرش مقاله، راهنمای تهیه و ارسال مقاله

الف - معرفی نشریه

«پژوهش‌های حبوبات ایران» نشریه‌ای است با درجه علمی پژوهشی که به وسیله پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب تفاهم‌نامه همکاری با شش دانشگاه کشور شامل دانشگاه‌های صنعتی اصفهان، تربیت مدرس، شهید باهنر کرمان، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آزاد اسلامی واحد شیراز و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به تعداد دو شماره در سال انتشار می‌یابد. این نشریه تخصصی، نتایج تحقیقات حبوبات را در زمینه‌های مختلف پژوهشی، منتشر می‌کند. منظور از حبوبات، بقولات مهم زراعی شامل نخود، عدس، انواع لوبیا، ماش، باقلا، نخودفرنگی، دال عدس و خلر است.

ب - فراخوان و شرایط پذیرش مقاله

ب-۱- مقالات باید نتیجه پژوهش‌های اصیل در زمینه حبوبات بوده و پیش‌تر در نشریه دیگری چاپ نشده و یا همزمان به نشریه دیگری ارسال نشده باشند. مراحل ارسال مقاله و پیگیری وضعیت آن، از طریق پایگاه اختصاصی نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران در سامانه یکپارچه مدیریت نشریه‌های علمی دانشگاه فردوسی مشهد به نشانی <http://ijpr.um.ac.ir> خواهد بود.

ب-۲- نویسنده(گان) طی تعهدنامه‌ای، ضمن اعلام ارسال مقاله با ذکر عنوان، رعایت اخلاق پژوهشی و نیز اصول اخلاقی نشر را ابراز می‌نمایند. این تعهدنامه که فایل آن در سایت نشریه موجود است، باید به امضای نویسنده مسئول و نیز یکایک نویسندگان مقاله، رسیده و پس از اسکن، از طریق سامانه اینترنتی نشریه در بخش بارگذاری فایل‌های الحاقی، بارگذاری گردد.

ب-۳- مسئولیت هر مقاله از نظر علمی به عهده نویسنده(گان) آن خواهد بود.

ب-۴- مقالات به وسیله گروه دبیران (هیئت تحریریه) و با همکاری هیئت داوران، ارزیابی شده و در صورت تصویب، بر اساس ضوابط خاص نشریه در نوبت چاپ قرار خواهند گرفت. نشریه در رد یا پذیرش و نیز ویراستاری و تنظیم مطالب مقالات، آزاد است.

ب-۵- زبان اصلی نشریه، فارسی است و مقالات، حاوی چکیده مبسوط به زبان انگلیسی نیز خواهند بود.

ج - راهنمای تهیه و ارسال مقاله

ج-۱- روش نگارش

متن مقاله باید در محیط نرم‌افزار MS-Office Word 2007 با ابعاد A4 با فاصله ۲/۵ سانتی‌متر از لبه‌ها و فاصله ۱/۵ بین خطوط با قلم فارسی B Nazanin اندازه ۱۲ و قلم انگلیسی Times New Roman اندازه ۱۱ و به صورت یک‌ستونه تایپ شود. لازم است تمام سطرهای متن مقاله، به صورت ادامه‌دار (Continuous) شماره‌گذاری (Line numbering) شوند. همه صفحه‌های مقاله باید دارای شماره بوده و تعداد آن از ۲۰ تجاوز نکند. هرگونه شکل، جدول و فرمول نیز به صورت واضح به همین نرم‌افزار انتقال یابد.

ج-۲- اجزای مقاله

هر مقاله تخصصی، حداقل باید در دو فایل جداگانه شامل فایل صفحه مشخصات و فایل متن مقاله، تهیه و ارسال شود. بخش‌های ضروری هر یک از این دو فایل و نیز اصول لازم که در تهیه آنها باید رعایت شوند، به شرح زیر است:

ج-۲-۱- در فایل صفحه مشخصات، موارد زیر باید به دقت به هردو زبان فارسی و انگلیسی قید گردند: عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی نگارنده(گان) و جنسیت، رتبه و درجه علمی، رشته و مقطع تحصیلی، گرایش تخصصی و عنوان شغلی، محل خدمت، نشانی دقیق پستی، پست الکترونیک، تلفن ثابت و تلفن همراه آن‌ها. چنانچه مقاله توسط بیش از یک نفر تهیه شده باشد، نام مسئول مکاتبه (Corresponding Author) با گذاشتن ستاره‌ای روی آن، مشخص و در پاورقی همین صفحه درج شود. صفحه مشخصات، بدون شماره است. چنانچه مقاله، خلاصه یا بخشی از پایان‌نامه (رساله) دانشجویی باشد، لازم است موضوع در پاورقی صفحه مشخصات با قید نام استاد راهنما و دانشگاه مربوط، منعکس شود. فایل صفحه مشخصات به صورت جدا از فایل متن مقاله، در گام پنجم از فرآیند ارسال مقاله (بارگذاری فایل‌های الحاقی)، بارگذاری شود.

ج-۲-۲- فایل متن مقاله، باید حاوی بخش‌های عنوان، چکیده فارسی و واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج و بحث، نتیجه‌گیری، سپاسگزاری (در صورت لزوم)، فهرست منابع و چکیده مبسوط انگلیسی باشد. در اولین صفحه، عنوان مقاله بدون هرگونه ذکر نام و مشخصات نویسنده(گان)، درج شود. عنوان باید خلاصه و روشن و بیان‌کننده موضوع پژوهش بوده و از ۲۰ کلمه تجاوز نکند. چکیده فارسی، حداکثر در ۲۵۰ کلمه نوشته شده و همه آن در یک پاراگراف تنظیم شود. چکیده با وجود اختصار باید محتوای مقاله و برجسته‌ترین نتایج آن را بدون استفاده از جدول، شکل و کلمات اختصاری تعریف‌نشده ارائه کند. ج-۲-۳- پس از چکیده، واژه‌های کلیدی آورده شود. به این منظور تنها از واژه‌هایی استفاده شود که در عنوان و حتی‌المقدور در چکیده مقاله از آنها ذکر به میان نیامده باشد.

ج-۲-۴- در مقدمه، باید سوابق پژوهشی مربوط به موضوع تحقیق، توجیه ضرورت و نیز اهداف تحقیق، به خوبی ارائه شوند. ج-۲-۵- مواد و روش‌ها باید کاملاً گویا و روشن بوده و در آن، مشخصات محل و نحوه اجرای آزمایش، به همراه روش گردآوری داده‌ها و پردازش و تحلیل آنها با ذکر منابع، به روشنی ارائه شود. در صورت کاربرد معادلات ریاضی، باید همه اجزای معادله به طور دقیق تعریف شده و در صورت استخراج معادله توسط نگارنده(گان)، نحوه حصول آن در پیوست آورده شود.

ج-۲-۶- نتایج و بحث باید به صورت توأم ارائه شده و یافته‌های پژوهش (نتایج) با استناد به منابع علمی مرتبط با موضوع، مورد بحث قرار گیرند. عنوان جدول‌ها، در بالا و عنوان شکل‌ها در پایین آنها آورده شود. در زیر هر عنوان فارسی، باید ترجمه انگلیسی آن نیز درج شود. عناوین، باید گویای کامل نتایج ارائه شده در جدول یا شکل بوده و همه اطلاعات و تعاریف لازم را شامل شوند، به طوری که نیاز به مراجعه به متن مقاله نباشد. در جدول‌ها، ترجمه انگلیسی عناوین سطرها، ستون‌ها و واحدهای اندازه‌گیری، در زیر یا کنار نوشته فارسی آنها درج شود. کاربرد هرگونه علائم، اختصارات و مخفف‌ها در شکل‌ها و جدول‌ها، باید همراه با درج توضیح صورت کامل آن‌ها در زیرنویس، به فارسی و انگلیسی باشد. ساختار جداول به صورت چپ‌چین تنظیم شده و محتوای آنها (اعداد) تنها به انگلیسی نوشته شود. شکل‌ها کاملاً به انگلیسی تهیه شوند و هیچ کلمه فارسی در داخل شکل به کار نرفته باشد. شکل‌ها و جدول‌ها بدون کادر باشند و حروف، عناوین و علائم به کاررفته در آنها، کاملاً خوانا و تفکیک‌پذیر باشند. شکل‌ها و جدول‌ها، هر کدام به طور مستقل دارای شماره ترتیبی مستقل باشند و حتماً در داخل متن به آنها ارجاع داده شود. برای بیان اوزان، واحدها و مقادیر از سیستم متریک استفاده شود.

ج-۲-۷- در صورت لزوم، جهت تشکر از شخص یا سازمان، این مطلب با عنوان "سپاسگزاری" پس از نتیجه‌گیری آورده شود. ج-۲-۸- در بخش منابع، یک فهرست شماره‌گذاری شده از منابع استفاده‌شده که همگی به ترتیب حروف الفبا تنظیم شده باشند، ارائه شود. تنها منابعی باید ذکر شوند که در ارتباط نزدیک با کار نویسنده بوده و مستقیماً از آنها استفاده شده باشد. همه منابعی که در متن ذکر شده‌اند، باید در فهرست منابع با مشخصات کامل نوشته شوند. در مواردی که فقط چکیده مقاله در اختیار بوده است، پس از نام منبع، کلمه (abstract) داخل پرانتز ذکر شود. نحوه ارجاع به منابع در متن مقاله، به صورت اسم نویسنده(گان) و تاریخ انتشار منبع باشد. حتی‌الامکان از درج نام افراد در شروع جمله خودداری گردد و منابع در انتهای جمله و در پرانتز ارائه شوند؛ مانند (Nezami, 2007). برای جداسازی منابع از ";" استفاده شود؛ مانند (Saxena, 2003; Singh et al., 2008; Bagheri & Ganjeali, 2009). چنانچه در شروع جمله به منبعی استناد شود، به صورت نام (سال) نوشته شود مانند (Parsa (2007). اسامی فارسی نیز باید به لاتین و سال شمسی به میلادی، برگردان شوند.

ج-۲-۹- صفحه آخر، شامل چکیده مبسوط انگلیسی است. از ذکر اسامی و آدرس نویسندگان در این صفحه خودداری شود.

ج-۲-۱۰- تهیه چکیده مبسوط انگلیسی (Extended Abstract):

با توجه به اهمیت نظام‌های رتبه‌بندی و علم‌سنجی رسمی، ضروری است "چکیده مبسوط انگلیسی" (Extended Abstract) در انتهای هر مقاله، نگارش یابد. این چکیده، باید حداقل ۷۰۰ و حداکثر ۱۰۰۰ کلمه داشته و به تفکیک، دارای بخش‌های زیر باشد:

1. Title
2. Introduction
3. Materials and Methods
4. Results and Discussion
5. Conclusion
6. Key words

ج-۳- نحوه تنظیم فهرست منابع

کلیه منابع فارسی و انگلیسی، به زبان انگلیسی و با قلم Times New Roman اندازه ۱۲ در فهرست منابع نوشته شوند. لازم است منابع فارسی به زبان انگلیسی برگردان شده و در آخر هر منبع، در صورت داشتن خلاصه انگلیسی، عبارت In Persian with English Summary و در صورت نداشتن خلاصه انگلیسی، عبارت In Persian در داخل پرانتز نوشته شود. در نوشتن منابع، نام نشریات به صورت کامل درج شود. از ذکر منابع بی‌نام و خارج از دسترس، خودداری شود. مثال‌هایی از نحوه نوشتن فهرست منابع در زیر آمده است:

ج-۳-۱- مجلات:

Anbessa, Y., Warkentin, T., Vandenberg, A., and Ball, R. 2006. Inheritance of time to flowering in chickpea in a short-season temperate environment. *Journal of Heredity* 97(1): 55-61.

ج-۳-۲- کتاب تألیف شده:

James, E.K., Sprent, J.I., and Newton, W.E. 2008. *Nitrogen-Fixing Leguminous Symbioses*. Kluwer Academic Publishers.

ج-۳-۳- مقاله یا یک فصل از کتاب تدوین شده (Edited book):

Mettam, G.R., and Adams, L.B. 1999. How to prepare an electronic version of your article. In: B.S. Jones and R.Z. Smith (Eds.). *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, p. 281-304.

ج-۳-۴- مقاله در نشریه برخط (On-line):

Mantri, N.L., Ford, R., Coram, T.E., and Pang, E.C.K. 2010. Evidence of unique and shared responses to major biotic and abiotic stresses in chickpea. *Environmental and Experimental Botany* 69(3): 286-292. Available at Web site <http://www.sciencedirect.com/> (verified 1 August 2010).

ج-۳-۵- مقاله یا نوشته از اینترنت مربوط به یک دانشگاه یا سازمان:

International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). 2010. Crops varieties released, 1977-2007, cereal and legume varieties released by national programs: Kabuli chickpea. Available at Web site http://www.icarda.org/Crops_Varieties_KC.htm (verified 1 August 2010).

ج-۳-۶- رساله‌های تحصیلی:

Bagheri, A. 1994. Boron tolerance in grain legumes with particular reference to the genetics of boron tolerance in peas. Ph.D. Thesis. University of Adelaide, South Australia.

ج-۳-۷- کنفرانس‌های علمی:

Porsa, H., Nezami, A., Gholami, M., and Bagheri, A. 2010. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasms for cold tolerance at fall sowing in highland and cold areas of Iran. (abstract). In: Abstract Book of the 3rd Iranian Pulse Crops Symposium, May 19-20, 2010. Kermanshah Agricultural Jihad Organization. p. 49. (In Persian).

ج-۳-۸- نرم‌افزارهای رایانه‌ای:

SAS Institute. 1999. *SAS/Stat User's Guide*, Version 8.0. SAS Institute, Cary, NC.

MSTAT-C. Version 1.42. Freed, R.D. and Eisensmith, S.P. Crop and Soil Sciences Department. Michigan State University.

در انتها، فایل متن مقاله، در گام چهارم از فرایند ارسال، بارگذاری گردد.

نشانی:

مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی، دفتر نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران

صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۶۵۳، کد پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴

تلفن: ۳۸۸۰۴۸۱۲ و ۳۸۸۰۴۸۰۱ (۰۵۱)، نمابر: ۳۸۸۰۷۰۲۴ (۰۵۱)

پست الکترونیک: ijpr@um.ac.ir

تارنما: <http://ijpr.um.ac.ir>

<http://rcps.um.ac.ir>

بررسی و مقایسه سناریوهای مختلف اقتصادی و زیست‌محیطی از طریق بهینه‌سازی مصرف سوپر جاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی در زراعت لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

محسن جهان^{۱*}، محمد بهزاد امیری^۲ و فرانک نوربخش^۳

۱- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی مجتمع آموزش عالی گناباد

۳- دانشجوی دکتری اگرواکولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۷

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از نهاده‌های بوم‌سازگار و بهینه‌سازی این منابع، به‌عنوان راهکاری اکولوژیک مدنظر قرار گرفته و افزایش تولید و بهبود سلامت محصولات مختلف را در پی داشته است. به‌منظور تعیین مقادیر بهینه سوپر جاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی در زراعت لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) آزمایشی با استفاده از روش سطح پاسخ، در قالب باکس‌بنکن طراحی و در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ترکیبی از سوپر جاذب رطوبت (در دو سطح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار)، اسید هیومیک (در دو سطح ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار) و کود گاوی (در دو سطح صفر و ۳۰ تن در هکتار) بود که با در نظر گرفتن سه تکرار برای نقطه مرکزی، در مجموع ۱۵ ترکیب تیماری برای مطالعه لحاظ گردید. نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین مقدار عملکرد دانه در سطوح میانی اسید هیومیک (۶ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد، به‌طوری‌که مصرف این مقدار اسید هیومیک عملکرد دانه را به‌ترتیب ۱۵ و ۱۱ درصد نسبت به سطوح ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار افزایش داد. افزایش متعادل مقادیر مصرفی کود دامی منجر به افزایش عملکرد ماده خشک شد، به‌این‌ترتیب که با افزایش مقدار کود دامی از صفر به ۱۵ تن در هکتار عملکرد ماده خشک ۳۶ درصد افزایش یافت، ولی افزایش بیشتر کود دامی (از ۱۵ به ۳۰ تن در هکتار) کاهش چهار درصدی عملکرد ماده خشک را سبب شد. با افزایش مقادیر مصرفی سوپر جاذب، میزان تلفات نیتروژن کاهش یافت، به‌طوری‌که کاربرد ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب به جای ۸۰ کیلوگرم در هکتار از این کود منجر به کاهش ۱۷ درصدی میزان تلفات نیتروژن شد. کارایی مصرف نیتروژن در سطح ۶ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به‌ترتیب ۱۶ و ۱۳ درصد نسبت به سطوح چهار و هشت کیلوگرم در هکتار بیشتر بود. در سناریوی اقتصادی به‌ترتیب با مصرف ۱۴۳/۸۳ و ۶/۱۴ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب و اسید هیومیک و ۲۲/۱۲ تن در هکتار کود دامی، عملکرد دانه‌ای معادل ۱۶۱۳ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. در سناریوی زیست‌محیطی میزان تلفات نیتروژن نسبت به سناریوی اقتصادی به‌شدت (۹۵ درصد) کاهش یافت. از آنجایی‌که در سناریوی اقتصادی-زیست‌محیطی از ابعاد مختلف به بهینه‌سازی منابع توجه می‌شود، به‌نظر می‌رسد استفاده از مقادیر بهینه منابع در این سناریو (به‌ترتیب ۱۳۱/۷۱ و ۶/۰۲ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب و اسید هیومیک و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار کود دامی) مناسب‌ترین سطوح نهاده‌های مصرفی در این پژوهش باشد.

واژه‌های کلیدی: باکس‌بنکن، تلفات نیتروژن، راهکار اکولوژیک، سلامت محصول، نهاده بوم‌سازگار

مقدمه

سوپر جاذب رطوبت یکی از راهکارهای دستیابی به این مهم بوده و نه تنها افزایش قابل توجه کارایی مصرف آب را به‌همراه دارد، بلکه در بهبود خصوصیات کمی و کیفی محصولات مختلف نقش ایفا می‌کند (Nykanen et al., 2011; Zhong et al., 2013). پلیمرهای سوپر جاذب چندین برابر وزن خود آب را جذب و نگهداری می‌کنند. مقدار جذب آب در این پلیمرها بسته به فرمول‌بندی، ناخالصی‌های آب و مقدار نمک

فراهم‌نمودن زمینه افزایش بهره‌وری آب کشاورزی، به‌عنوان منطقی‌ترین رویکرد مدیریتی منابع آب در مناطق خشک و نیمه‌خشک مطرح است. استفاده از پلیمرهای

* نویسنده مسئول: پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت، صندوق پستی ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳، jahan@um.ac.ir

پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) نسبت به سیستم تولید ارگانیک و استفاده از کود گاوی بود، به‌طوری‌که با کاربرد ۲۰ تن در هکتار کود گاوی و عدم استفاده از قییم، بیشترین عملکرد میوه و دانه حاصل شد.

برای تعیین حد بهینه مجموعه‌ای از نهاده‌های بوم‌سازگار نظیر سوپرجاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی استفاده از مدل‌ها و روابط تجربی-ریاضی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. یکی از معمول‌ترین روش‌های مورد استفاده برای بهینه‌سازی این عوامل و تخمین مدل رگرسیونی تابع درجه دو، طرح مرکب مرکزی^۱ است (Wu & Hamada, 2000). این طرح روشی جایگزین و مناسب برای طرح فاکتوریل می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۵۱ توسط باکس و ویلسون ارائه گردید و توسط باکس و هانتز اصلاح شد. این روش دارای تعدادی نقاط طراحی و یک نقطه مرکزی تکرارشونده است. از مزایای این روش می‌توان به کاهش تعداد آزمایش‌ها، ساده‌سازی یک مسئله پیچیده به یک مسئله ساده‌تر و دقت بالاتر آن نسبت به روش‌های دیگر اشاره کرد (Aslan, 2007). در یک پژوهش (Jahan et al., 2015d) با استفاده از طرح مرکب مرکزی، مقادیر بهینه سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک را در شرایط کم‌آبیاری در زراعت ذرت تعیین و گزارش کردند که در سناریوی اقتصادی با مصرف به‌ترتیب ۱۲۶/۰۶ و ۷/۱۹ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک و ۳۴۷/۴۷ مترمکعب در هکتار آبیاری عملکرد دانه‌ای معادل ۲۶۷۱۰ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. در پژوهشی دیگر، (Jahan et al., 2015b) پس از بررسی مقادیر بهینه کودهای نیتروژن، فسفر و دامی در زراعت گندم (*Triticum aestivum* L.) گزارش کردند که در سناریوی اقتصادی، مصرف ۱۴۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص، ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و ۱۸ تن در هکتار کود دامی، منجر به تولید ۶۵۰۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد دانه شد و در سناریوی زیست محیطی با مصرف ۲۱ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص، بدون کاربرد فسفر و مصرف ۱۶ تن در هکتار کود دامی، عملکرد دانه ای معادل با ۳۱۶۰ کیلوگرم در هکتار حاصل شد.

نظر به اهمیت لوبیا به‌عنوان مهم‌ترین گیاه زراعی در بین حبوبات و نیز عدم وجود اطلاعاتی مستند و جامع در زمینه بهینه‌سازی همزمان سوپرجاذب، اسید هیومیک و کود دامی با استفاده از نرم‌افزارهای آماری، این پژوهش باهدف بهینه‌سازی این عوامل و مقایسه سناریوهای مختلف اقتصادی،

موجود تا ۴۰۰ برابر وزن سوپرجاذب متغیر است (Monnig, 2005). (Jahan et al., 2011) با بررسی اثر کاربرد هیدروژل سوپرجاذب رطوبت در خاک و محلول‌پاشی اسید هیومیک در زراعت لوبیا (*Phaseolous vulgaris* L.) گزارش کردند که اثر متقابل سوپرجاذب و اسید هیومیک بر عملکرد دانه معنی‌دار بود و بیشترین عملکرد دانه در تیمار ۸۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب به‌علاوه اسید هیومیک به‌دست آمد.

اسید هیومیک سبب افزایش طول و وزن ریشه، تعداد ریشه‌های جانبی و همچنین افزایش جریان شیره گیاهی از آوندها می‌شود. همچنین اسید هیومیک از طریق افزایش تقسیم سلولی در ریشه، افزایش فتوسنتز و بهبود جذب مواد غذایی توسط گیاه، باعث افزایش کمیت و کیفیت محصولات می‌شود. اسید هیومیک اثر خود را از طریق آماده‌سازی مواد معدنی، گسترش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید، انتقال عناصر غذایی و مواد تنظیم‌کننده رشد اعمال می‌نماید. مواد هیومیکی قادر به کاهش اثرات تنش ناشی از عوامل محیطی و طبیعی بر روی گیاه می‌باشند (Shahryari et al., 2008). در یک پژوهش، اثر سطوح مختلف اسید هیومیک (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) بررسی و گزارش شد که بیشترین وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع و تعداد گل و برگ در بوته در اثر کاربرد تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد (Mohammadipour et al., 2012).

مصرف کود دامی در کشاورزی سنتی جایگاه خاصی داشته و در حال حاضر می‌تواند نقش مهمی را در کشاورزی پایدار ایفا کند. کودهای دامی حاوی اکثر عناصر مورد نیاز گیاهان هستند و علاوه‌بر داشتن عناصر پرمصرف دارای ریزمغذی‌ها بوده و استفاده از آن‌ها در درازمدت تعادل غذایی خاک را در پی خواهد داشت. نتایج بررسی‌ها نشان داده است که کودهای آلی سبب بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک شده و عملکرد محصول را افزایش داده‌اند (Paksoy & Aydin, 2004; Vessey, 2003). باتوجه به‌این که ایران در منطقه خشک و نیمه‌خشک قرار گرفته و مقدار مواد آلی خاک‌های آن اندک است، تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاهان از طریق نهاده‌های اکولوژیک ضروری است. در اثر استمرار مصرف کودهای آلی pH خاک کاهش می‌یابد و در نتیجه، علاوه بر بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های زراعی، حلالیت عناصر غذایی به‌ویژه فسفر، آهن، روی، منگنز و بر و مس افزایش می‌یابد (Botella et al., 1994). نتایج تحقیق دوساله‌ی (Jahan et al., 2007) حاکی از واکنش مثبت کدو

^۱ Central composite design

زیست‌محیطی و اقتصادی-زیست‌محیطی در زراعت لوبیا انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متر از سطح دریا در زمینی به مساحت ۱۵۰ مترمربع و در قالب طرح باکس-بنکن^۱ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ترکیبی از سوپر جاذب رطوبت (در دو سطح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار)، اسید هیومیک (در دو سطح ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار) و کود گاوی (در دو سطح صفر و ۳۰ تن در هکتار) بود. مبنای انتخاب سطوح سوپر جاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی، نتایج پژوهش‌های قبلی نگارندگان مقاله بود (Jahan et al., 2013; Jahan et al., 2015a; Jahan et al., 2015b; Jahan et al., 2015c; Jahan et al., 2015d). تیمارهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار Minitab Ver. 17 مشخص شدند که با در نظر گرفتن سه تکرار برای نقطه مرکزی، در مجموع ۱۵ ترکیب تیماری برای مطالعه لحاظ گردید. لازم به ذکر است که به واسطه ماهیت طرح آماری کلیه تیمارها در یک بلوک اعمال شدند. مقادیر بیشینه، مرکزی و کمینه فاکتورها به ترتیب با ۱، ۰ و ۱- در جدول ۱ نشان داده شده است.

قبل از انجام آزمایش، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک، نمونه‌گیری انجام و به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه ارسال شد (جدول ۲). برای آماده‌سازی زمین عملیات دیسک‌زنی و تسطیح زمین توسط تراکتور انجام شد. پس از آماده‌سازی زمین، مقادیر مختلف سوپر جاذب و کود دامی برای هر یک از کرت‌های مربوطه محاسبه و به‌طور یکنواخت در سطح کرت‌های مورد نظر پخش و تا عمق ۳۰ سانتی‌متری کاملاً با خاک مخلوط شدند. خصوصیات نهاده‌های مورد استفاده در آزمایش در جدول ۲ آورده شده است. ابعاد کرت‌های آزمایشی ۳×۲ متر و فاصله بین کرت‌ها ۱۰۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد و در هر کرت چهار ردیف کشت با فاصله ۵۰ سانتی‌متر ایجاد گردید. بذور لوبیا با رقم درخشان از مزرعه تحقیقاتی دانشکده تهیه و در نیمه دوم اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۳ با تراکم ۲۰ بوته در مترمربع روی هر پشته کشت شدند. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی، به فاصله هر هفت روز یک‌بار به روش نشتی

و توسط لوله انجام شد. به‌منظور اجتناب از مخلوط شدن آب کرت‌ها با یکدیگر، برای هر کرت لوله آبیاری جداگانه در نظر گرفته شد. اعمال سطوح مختلف اسید هیومیک در دو نوبت به‌صورت محلول‌پاشی روی برگ‌ها در مراحل شش تا هفت برگی و قبل از گلدهی در کرت‌های مربوطه انجام گرفت. پس از سبز شدن (در مرحله چهار برگی)، برای حصول تراکم مطلوب (۲۰ بوته در مترمربع)، نسبت به تنک گیاهان سبز شده اقدام شد. کنترل علف‌های هرز، ۳۰ و ۴۵ روز پس از کاشت به روش دستی انجام گرفت. در زمان آماده‌سازی زمین و در طول دوره رشد، از هیچ نوع علف‌کش، آفت‌کش و قارچ‌کش شیمیایی استفاده نشد.

در اواخر فصل رشد، با آغاز مرحله رسیدگی، زرد شدن بوته‌ها و خشک شدن غلاف‌ها، تعداد سه بوته از هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و تعداد دانه در بوته و درصد پروتئین دانه آن‌ها اندازه‌گیری شدند. برای تعیین عملکرد دانه و عملکرد ماده خشک، پس از حذف اثر حاشیه‌ای، سطح سه مترمربع از هر کرت انتخاب و عملیات برداشت انجام شد. پس از اتمام عملیات برداشت، نمونه خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری هر کرت آزمایشی برداشته و میزان نیتروژن آن‌ها تعیین شد. میزان پروتئین دانه و نیتروژن خاک به‌روش AOAC Official Method 968.06 (4.2.04) بر اساس تعیین نیتروژن به‌طریق کج‌جلدال و با استفاده از دستگاه Semi-Automated Distillation Unit انجام شد (Horwitz & Latimer, 2005).

تلفات نیتروژن از طریق معادله ۱ محاسبه شد (Jarvis et al., 2011):

$$N_{\text{loss}} = N_{\text{initial}} + N_{\text{fertilizer}} - (N_{\text{plant}} + N_{\text{soil}}) \quad (1)$$

که در آن، N_{loss} تلفات نیتروژن (kg.m^{-2})؛ N_{initial} نیتروژن موجود در خاک در ابتدای فصل رشد (kg.m^{-2})؛ $N_{\text{fertilizer}}$ نیتروژن مصرفی از طریق کود دامی (kg.m^{-2})؛ N_{plant} میزان نیتروژن گیاه در انتهای فصل رشد (mg.g^{-1}) و N_{soil} نیتروژن موجود در خاک پس از برداشت (kg.m^{-2}) بود. تمام متغیرها بر اساس واحد کیلوگرم نیتروژن در هکتار محاسبه شدند. در این پژوهش، فرض گرفته شد که ۵۰ درصد نیتروژن موجود در کود دامی (آلی و معدنی) در سال اول کاربرد آن برای گیاه زراعی قابل‌دسترس است (Pimentel, 1993).

^۱ Box-Benken

جدول ۱- مقادیر و ضرایب تیمارها با توجه به طرح باکس-بنکن

Table 1. Values and coefficients of treatments based on the Box-Benken design

شماره تیمارها Number of treatments	ضرایب* Coefficients			مقادیر تیمارها Amounts of treatments		
	سوپر جاذب رطوبت Water super absorbent (Kg ha ⁻¹)	اسید هیومیک Humic acid (Kg ha ⁻¹)	کود دامی Cattle manure (Kg ha ⁻¹)	سوپر جاذب رطوبت Water super absorbent (Kg ha ⁻¹)	اسید هیومیک Humic acid (Kg ha ⁻¹)	کود دامی Cattle manure (T ha ⁻¹)
1	0	0	0	120	6	15
2	-1	0	-1	80	6	0
3	0	0	0	120	6	15
4	0	+1	-1	120	8	0
5	+1	-1	0	160	4	15
6	+1	0	+1	160	6	30
7	-1	+1	0	80	8	15
8	+1	0	-1	160	6	0
9	-1	-1	0	80	4	15
10	+1	+1	0	160	8	15
11	0	-1	-1	120	4	0
12	0	0	0	120	6	15
13	-1	0	+1	80	6	30
14	0	+1	+1	120	8	30
15	0	-1	+1	120	4	30

* +1، -1 و 0 به ترتیب سطوح بالا، پایین و میانگین هر فاکتور می‌باشد.

* +1, -1 and 0 are high, low and average levels of each factor, respectively.

های آماری جذر میانگین مربعات خطا^۲ (معادله ۳) و رگرسیون خطی یک‌به‌یک ارزیابی شدند.

$$NRMSE (\%) = \frac{100}{O} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2}{n}} \quad (3)$$

که در این معادله O میانگین مشاهدات، P_i مقادیر برازش

شده، O_i مقادیر مشاهده‌شده و n تعداد مشاهدات می‌باشد.

RMSE به صورت درصد اختلاف نسبی مقادیر پیش‌بینی

شده در برابر مقادیر واقعی بیان می‌شود و بر اساس تعریف، قدرت پیش‌بینی مدل در صورتی که مقدار RMSE کمتر از ۱۰ درصد باشد، عالی، اگر بین ۱۰ تا ۲۰ درصد باشد، خوب، اگر بین ۲۰ تا ۳۰ درصد باشد، متوسط و اگر بالاتر از ۳۰ درصد باشد، ضعیف برآورد می‌شود (Myers & Montgomery, 1995). همچنین، برای ارزیابی مدل می‌توان از نمودار مقادیر مشاهده‌شده در برابر مقادیر برازش‌شده استفاده کرد. بر این اساس معادله خط راست مقادیر مشاهده‌شده و برازش‌شده با

جهت محاسبه کارایی مصرف نیتروژن (ANUE)^۱ (kg Seed.kg Nitrogen⁻¹) از معادله ۲ استفاده شد (Rathke et al., 2006):

$$ANUE = \frac{Y_s}{N_{initial} + N_{fertilizer}} \quad (2)$$

که در این معادله، Y_s عملکرد دانه (kg.ha⁻¹) می‌باشد.

مقادیر بهینه سوپر جاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی با توجه به سه سناریوی اقتصادی، زیست‌محیطی و اقتصادی-زیست‌محیطی تعیین گردید، بدین ترتیب که در سناریوی اقتصادی، عملکرد دانه لوبیا، در سناریوی زیست‌محیطی، تلفات نیتروژن و در سناریوی اقتصادی-زیست‌محیطی، عملکرد دانه، تلفات نیتروژن و کارایی مصرف نیتروژن به عنوان مبنای بهینه‌سازی در نظر گرفته شدند. در ادامه، سطوح بهینه فاکتورها برای حصول هر یک از سناریوهای تعریف شده بر اساس الگوریتم محاسباتی بهینه‌سازی تعیین گردید.

در نهایت نتایج برازش‌شده با داده‌های مشاهده‌شده مقایسه شدند و اعتبار مدل‌های رگرسیون با استفاده از آزمون

^۲ Root mean square error^۱ Agronomical Nitrogen Use Efficiency

توجه به مدل‌های نهایی که در هر یک از صفات انتخاب شدند
رسم شد (معادله ۴).
 $P_i = a + b O_i$ (۴)
تجزیه واریانس و تحلیل رگرسیونی داده‌های حاصل از
آزمایش و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Minitab
MS EXCEL Ver. 11 و Slide Write Ver. 2، Ver. 17
انجام گرفت.

جدول ۲- خصوصیات خاک، سوپر جاذب، اسید هیومیک و کود دامی مورد استفاده

Table 2. Characteristics of used soil, superabsorbent, humic acid and cattle manure

خصوصیات کود دامی مورد استفاده Characteristics of used cattle manure		خصوصیات اسید هیومیک مورد استفاده Characteristics of used humic acid		خصوصیات سوپر جاذب مورد استفاده Characteristics of used polymer super absorbent		خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک Physicochemical characteristics of soil	
1.21	نیتروژن (درصد) Nitrogen (%)	پوهوموس ۸۵ درصد Puhumus 85%	نام تجاری Trade name	پودر سفید رنگ White powder	ظاهر Appearance	لوم سیلتی Silty loam	بافت خاک Soil texture
0.31	فسفر (درصد) Phosphorous (%)	85	اسید هیومیک (درصد) Humic acid (%)	Less than 5	مقدار رطوبت (درصد) Moisture content	0.061	نیتروژن کل (درصد) Total nitrogen (%)
1.08	پتاسیم (درصد) Potassium (%)	12	اکسید پتاسیم (درصد) Potassium oxid (%)	0	بو و سمیت Odor and toxicity	11.4	فسفر قابل دسترس (ppm) Available phosphorus (ppm)
		1	آهن (درصد) Fe (%)	0.8	چگالی توده‌ای (g.cm ⁻³) Mass density (g.cm ⁻³)	468	پتاسیم قابل دسترس (ppm) Available potassium (ppm)
		0.8	نیتروژن آلی (درصد) Organic nitrogen (%)	9.81	pH	1.1	هدایت الکتریکی (dS.m ⁻¹) (¹) Electrical conductivity (dS.m ⁻¹)
		9-10	pH			0.54	کربن آلی خاک (درصد) Soil organic carbon (%)
						8.23	pH

نتایج و بحث

عملکرد دانه

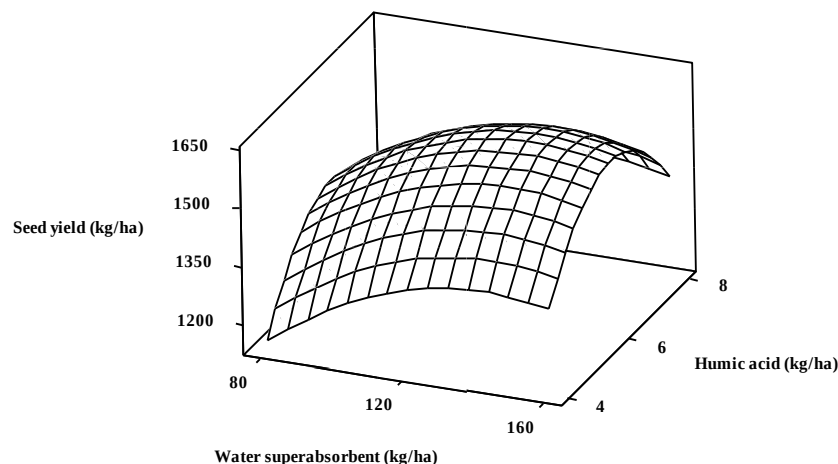
بیشتر از سایر سطوح بود. بیشترین مقدار عملکرد دانه در سطوح میانی اسید هیومیک (۶ کیلوگرم در هکتار) به دست آمد، به طوری که مصرف این مقدار اسید هیومیک عملکرد دانه را به ترتیب ۱۵ و ۱۱ درصد نسبت به سطوح ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار افزایش داد (شکل ۱). با افزایش مقادیر مصرفی کود دامی از صفر به ۱۵ تن در هکتار، عملکرد دانه افزایش یافت، ولی افزایش بیشتر کود دامی منجر به کاهش عملکرد دانه شد (شکل ۱).

به منظور تخمین عملکرد دانه با استفاده از مدل رگرسیون درجه دو کامل از اطلاعات جدول ۴ استفاده شد. ضرایب تبیین (R^2) نشان‌دهنده درصد تغییرات هر یک از متغیرهای وابسته تحت تأثیر متغیرهای مستقل است، به طوری که ضرایب تبیین بالا، برازش خوب مدل برآورده را نشان می‌دهند.

نتایج تجزیه واریانس مدل رگرسیونی درجه دو کامل^۱ در جدول ۳ نشان داده شده است که بر این اساس عملکرد دانه تحت تأثیر سوپر جاذب و کود دامی از جزء خطی مدل رگرسیونی و سوپر جاذب، اسید هیومیک و کود دامی از جزء درجه دو مدل رگرسیونی قرار گرفت. نتایج آزمون عدم برازش حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار تجزیه رگرسیونی بود که این امر مؤید قابلیت بالای برازش مدل است.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش مقادیر مصرفی سوپر جاذب، روند تغییرات عملکرد دانه افزایشی بود که البته شیب این افزایش در سطوح پایین سوپر جاذب

^۱ Full quadratic regression



شکل ۱- سطح پاسخ عملکرد دانه لوبیا نسبت به سطوح مختلف سوپر جاذب رطوبت و اسید هیومیک در سطح ثابت ۱۵ تن در هکتار کود دامی

Fig. 1. Response surface of bean seed yield affected by different levels of water superabsorbent and humic acid in constant level of 15 t.ha⁻¹ cattle manure

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) مدل رگرسیونی درجه دو کامل
Table 3. variance Analysis (mean squares) of full quadratic regression

منابع تغییر Source of variance	درجه آزادی Df	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد ماده خشک Dry matter yield	تعداد دانه در بوته Seed number per plant	پروتئین دانه Seed protein	تلفات نیتروژن N losses	کارایی مصرف نیتروژن NUE
مقدار ثابت Constant		**	**	**	**	**	**
مدل رگرسیون Regression model	9	36657**	27777639**	1115**	10.86*	5485**	32.42**
خطی Linear	3	38089**	45721887**	1306**	10.81*	16259**	86.45**
سوپر جاذب Superabsorbent	1	57877**	58761743**	1519**	7.31*	275 ^{ns}	1.82*
اسید هیومیک Humic acid	1	6780 ^{ns}	2005584 ^{ns}	177 ^{ns}	3.51 ^{ns}	31 ^{ns}	0.23 ^{ns}
کود دامی Cattle manure	1	49609**	76398335**	2221**	21.61**	48471**	257**
درجه ۲ Square	3	67899**	35662617**	1892**	19.37**	121 ^{ns}	10.78**
سوپر جاذب×سوپر جاذب Superabsorbent×Superabsorbent	1	29644*	31699309**	1134*	5.80 ^{ns}	45 ^{ns}	0.46 ^{ns}
اسید هیومیک×اسید هیومیک Humic acid×Humic acid	1	150731**	26696831**	1987**	9.94*	108 ^{ns}	7.50**
کود دامی×کود دامی Cattle manure×Cattle manure	1	48212**	63901939**	3353**	48.35**	256 ^{ns}	22.02**
اثر متقابل Interaction effect	3	3983 ^{ns}	1948412 ^{ns}	147 ^{ns}	2.39 ^{ns}	75 ^{ns}	0.03 ^{ns}
سوپر جاذب×اسید هیومیک Superabsorbent×Humic acid	1	662 ^{ns}	4038090 ^{ns}	58 ^{ns}	6.50*	0.2 ^{ns}	0.02 ^{ns}
سوپر جاذب×کود دامی Superabsorbent×Cattle manure	1	9636 ^{ns}	621551 ^{ns}	213 ^{ns}	0.04 ^{ns}	75 ^{ns}	0.08 ^{ns}
اسید هیومیک×کود دامی Humic acid×Cattle manure	1	1650 ^{ns}	1185594 ^{ns}	169 ^{ns}	0.64 ^{ns}	149 ^{ns}	0.002 ^{ns}
عدم برازش Lack of fit	3	2146 ^{ns}	1274730**	63 ^{ns}	1.43 ^{ns}	74 ^{ns}	0.43 ^{ns}

***، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار.

***, * and ns are significant at the 0.01 and 0.05 level and non-significant, respectively.

جدول ۴- ضرایب رگرسیون و تبیین معادله

Table 4. Regression coefficients and defining equation

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_1^2 + a_5X_2^2 + a_6X_3^2 + a_7X_1X_2 + a_8X_1X_3 + a_9X_2X_3$$

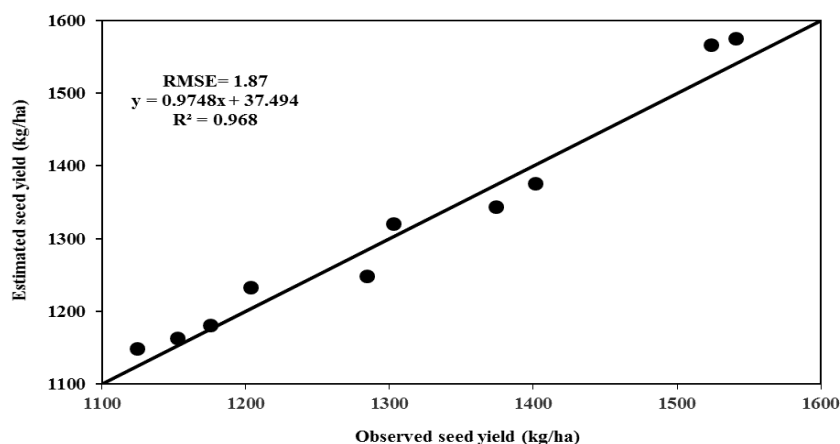
متغیرهای پاسخ Response variables						
ضرایب Coefficients	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد ماده خشک Dry matter yield	تعداد دانه در بوته Seed number per plant	پروتئین دانه Seed protein	تلفات نیتروژن N losses	کارایی مصرف نیتروژن NUE
a ₀	-1500	-33455	-291.90	-0.08	58.80	-0.47
a ₁	15.30	422.10	2.50	0.11	-0.76	0.06
a ₂	629.80	6538	63	3.14	-13.80	4.46
a ₃	6.61	573	2.37	0.53	4.44	-0.73
a ₄	-0.05	-1.83	-0.01	-0.0007	0.002	-0.0002
a ₅	-50.51	-672	-5.80	-0.41	1.35	-0.35
a ₆	-0.50	-18.49	-0.13	-0.01	0.03	0.01
a ₇	-0.16	12.56	0.04	0.01	-0.002	-0.0009
a ₈	0.08	0.65	0.01	-0.0001	0.007	0.0002
a ₉	0.67	18.10	0.21	0.01	-0.20	0.0007
R ²	97.17	98.49	96.59	94.73	99.28	99.51

X₁, X₂ and X₃ به ترتیب متغیرهای مستقل سوپرجاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی هستند.

X₁, X₂ and X₃ are independent variables of water superabsorbent, humic acid and cattle manure, respectively.

عرض از مبدأ معادله خط ۱ به ۱ تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۲).

مقدار پایین RMSE (۱/۸۷ درصد) و مقدار بالای ضریب تبیین (R² = ۰/۹۶) نشان دهنده برازش عالی مدل است، ضمن این که بین عرض از مبدأ و شیب خط رگرسیون و شیب و



شکل ۲- خط رگرسیون مقادیر برازش داده شده و مشاهده شده برای عملکرد دانه لوبیا و مقدار RMSE با توجه به مدل رگرسیون درجه دو کامل
Fig. 2. Regression line equation of the fitted and observed values for seed yield in bean and the RMSE values based on model of full quadratic regression

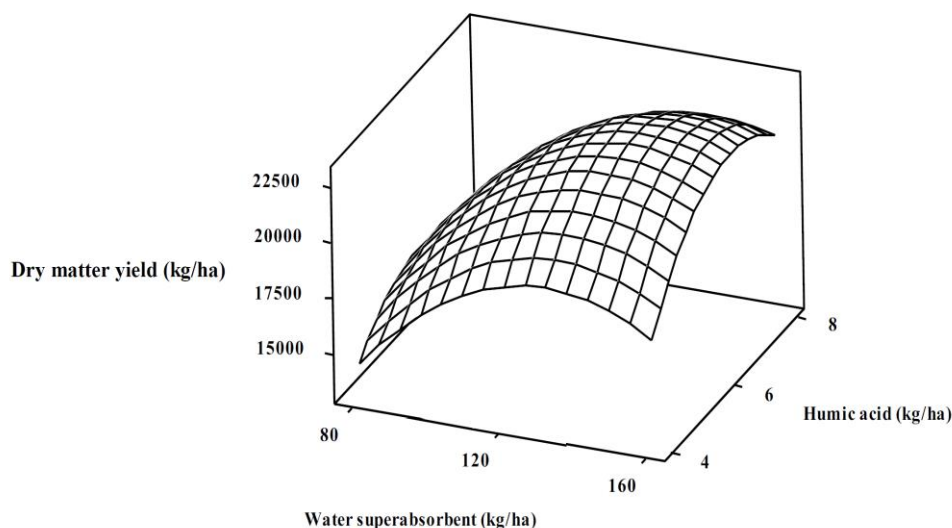
سوپرجاذب مورد مطالعه، کاربرد اسید هیومیک منجر به افزایش عملکرد دانه شد (Jahan et al., 2013). برخی از محققان اثر مقادیر مختلف سوپرجاذب و مدار آبیاری را بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که با افزایش مقادیر مصرفی سوپرجاذب، عملکرد دانه به میزان قابل توجهی نسبت به شاهد افزایش یافت (Yazdani et al., 2012). به نظر می رسد که اسید هیومیک مورد مطالعه از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک

به نظر می رسد که سطوح مختلف سوپرجاذب از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی خاک (Abedi-Koupai et al., 2008) منجر به افزایش عملکرد دانه شدند. در یک بررسی اثر سطوح مختلف سوپرجاذب و اسید هیومیک بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا قرمز مطالعه و گزارش شد که بیشترین و کمترین عملکرد دانه به ترتیب در تیمارهای ۸۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب به علاوه اسید هیومیک و عدم کاربرد سوپرجاذب بدون اسید هیومیک به دست آمد، ضمن اینکه در تمامی سطوح

عملکرد ماده خشک

اثرات خطی و درجه دو سوپر جاذب و کود دامی بر عملکرد ماده خشک معنی دار بود ($p < 0.01$) (جدول ۳). بیشترین عملکرد ماده خشک در بالاترین سطح سوپر جاذب مصرفی حاصل شد، به طوری که عملکرد ماده خشک در این سطح به ترتیب ۲۹ و یک درصد بیشتر از سطوح ۸۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۳). افزایش متعادل مقادیر مصرفی کود دامی منجر به افزایش عملکرد ماده خشک شد، به این ترتیب که با افزایش مقدار کود دامی از صفر به ۱۵ تن در هکتار عملکرد ماده خشک ۳۶ درصد افزایش یافت، ولی افزایش بیشتر کود دامی (از ۱۵ به ۳۰ تن در هکتار) کاهش چهار درصدی عملکرد ماده خشک را سبب شد (شکل ۳). عملکرد ماده خشک تحت تأثیر اثرات درجه دو اسید هیومیک قرار گرفت (جدول ۳)، به طوری که با افزایش مقادیر مصرفی اسید هیومیک از ۴ به ۶ کیلوگرم در هکتار عملکرد ماده خشک به شدت (۱۵ درصد) افزایش یافت و سپس با افزایش بیشتر اسید هیومیک مصرفی (از سطح ۶ به ۸ کیلوگرم در هکتار) ۹ درصد از مقدار عملکرد ماده خشک کاسته شد (شکل ۳). به نظر می‌رسد که افزایش بیش از حد اسید هیومیک، احتمالاً منجر به برهم خوردن تعادل غذایی خاک شده و این امر فعالیت باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن را مختل کرده است و در نتیجه در سطوح بالای اسید هیومیک عملکرد ماده خشک گیاه کاهش یافت.

(Natesan et al., 2007) شرایط مساعدی را برای رشد مطلوب تر گیاه فراهم کرد، لذا افزایش عملکرد دانه در شرایط کاربرد این کودها منطقی به نظر می‌رسد. در یک پژوهش، اثر اسیدهای آلی هیومیک و فولویک بر عملکرد گل و دانه گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch & Mey.) بررسی و گزارش شد که اسید هیومیک و اسید فولویک به ترتیب منجر به افزایش ۳۲ و ۲۲ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد شدند (Amiri, 2015). در پژوهشی دیگر، اثر سطوح مختلف اسید هیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه سویا مطالعه و گزارش شد که بیشترین عملکرد دانه در سطح ۱۰۰۰ پی پی ام اسید هیومیک به دست آمد، ضمن این که کاربرد ۲۰۰۰ پی پی ام از این اسید آلی نیز بهبود ارتفاع بوته، وزن هزار دانه و تعداد غلاف در بوته را نسبت به شاهد در پی داشت (El-Baz et al., 2012). کودهای دامی حاوی اکثر عناصر مورد نیاز گیاهان هستند و علاوه بر داشتن عناصر پرمصرف دارای ریزمغذی‌ها بوده و استفاده از آنها در درازمدت، حفظ تعادل غذایی خاک را در پی خواهد داشت. (Sharma و Chatterjee 2002) ضمن تأکید بر کاربرد کودهای آلی در کشت و کار گیاهان مختلف، علت افزایش تولید محصول را به بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک مرتبط دانستند. Amiri (2015) گزارش کرد که کاربرد کود گاوی به ترتیب منجر به افزایش ۲۱ و ۲۰ درصدی عملکرد گل و دانه گاوزبان ایرانی نسبت به شاهد شد.



شکل ۳- سطح پاسخ عملکرد ماده خشک لوبیا نسبت به سطوح مختلف سوپر جاذب رطوبت و اسید هیومیک در سطح ثابت ۱۵ تن در هکتار کود دامی

Fig. 1. Response surface of bean dry matter yield affected by different levels of water superabsorbent and humic acid in constant level of 15 t.ha⁻¹ cattle manure

همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، با توجه به مقدار پایین RMSE (۲/۹۹ درصد) و مقدار بالای ضریب تبیین $R^2 = 0.96$ در متغیر پاسخ عملکرد ماده خشک، برازش مدل در این صفت، عالی ارزیابی شد.

جدول ۵- جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) و ضریب تبیین توابع برازش شده برای متغیرهای پاسخ در ذرت

Table 5. Root mean square error and defining coefficients of fitted equations for response variables in maize

Response variables پاسخ متغیرهای				
RMSE, R^2	عملکرد ماده خشک Dry matter yield	تعداد دانه در بوته Seed number per plant	پروتئین دانه Seed protein	تلفات نیتروژن N losses
RMSE (%)	2.99	7.67	2.97	11.88
R^2	0.98	0.96	0.94	0.99

(2002)، در نتیجه احتمالاً مجموعه‌ای از عوامل مذکور در شرایط استفاده از این کودها منجر به بهبود عملکرد ماده خشک گیاه شدند. (Schiffer *et al.*, 1993) گزارش کردند که مصرف کودهای آلی در گیاه دارویی بومادران (*Achillea millefolium* L.) منجر به افزایش عملکرد ماده خشک گیاه شد. در پژوهشی دیگر، عملکرد گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در کشت ارگانیک ۸۰ درصد بیشتر از کشت رایج برآورد شد (Kalra, 2003). عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی ریحان در شرایط استفاده از کودهای آلی به‌ویژه کمپوست به‌میزان قابل توجهی در مقایسه با شاهد افزایش یافت (El Gendy *et al.*, 2001).

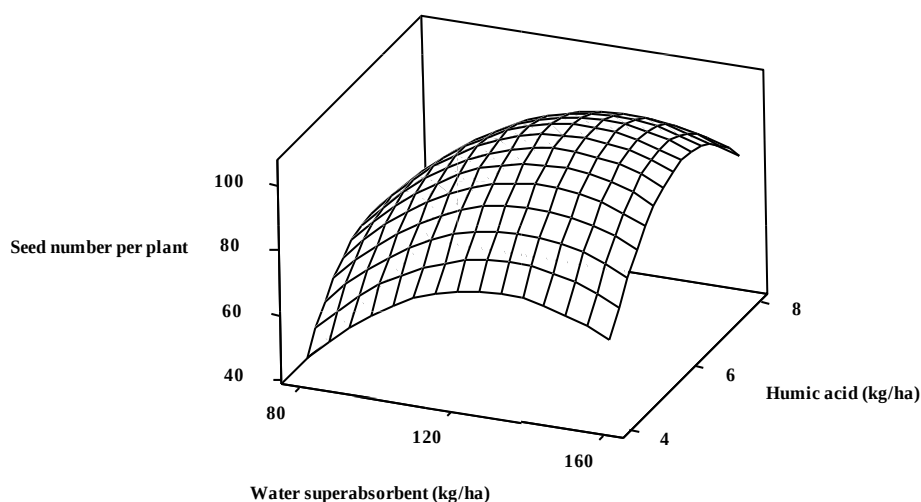
تعداد دانه در بوته

اثرات خطی سوپر جاذب و کود دامی و اثرات درجه دو آن‌ها، تأثیر معنی‌داری بر تعداد دانه در بوته داشت (جدول ۳). همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش مقادیر مصرفی سوپر جاذب، تغییرات تعداد دانه در بوته دارای روندی افزایشی بود که البته شدت این تغییرات با افزایش مقادیر سوپر جاذب از ۸۰ به ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار بسیار بیشتر از میزان تغییرات در سطوح بالای سوپر جاذب بود، به‌طوری‌که با افزایش سوپر جاذب مصرفی از ۱۲۰ به ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار، تعداد دانه در بوته تنها ۰/۸ درصد افزایش یافت. بیشترین تأثیرگذاری کود دامی در بهبود تعداد دانه در بوته در سطح ۱۵ تن در هکتار این کود بروز پیدا کرد، به‌طوری‌که مصرف ۱۵ تن در هکتار کود دامی به‌ترتیب منجر به افزایش ۵۶ و ۱۴ درصدی تعداد دانه در بوته نسبت به سطوح صفر و ۳۰ تن در هکتار شد (شکل ۴). اثرات درجه دو اسید هیومیک بر تعداد دانه در بوته معنی‌دار بود و بیشترین (۴۹ دانه در بوته) و کمترین (۷۴ دانه در بوته) تعداد دانه در بوته به‌ترتیب در سطوح ۶ و ۴ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به‌دست آمد (شکل ۴). افزایش بیش از

به‌نظر می‌رسد که اسید هیومیک احتمالاً از طریق بهبود فعالیت‌های آنزیمی در محیط ریشه (Samavat & Malakuti, 2006)، کارایی گیاه را در جذب آب افزایش داده و در نتیجه عملکرد ماده خشک افزایش یافته است. (Mohammadipour *et al.*, 2012) اثر سطوح مختلف اسید هیومیک (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) را بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه‌بهار مطالعه و گزارش کردند که بیشترین عملکرد ماده خشک در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک حاصل شد. (Jahan *et al.*, 2015a) اثر سطوح سوپر جاذب و اسید هیومیک را در مدارهای آبیاری مختلف در بافت خاک لومی سیلتی بر عملکرد کمی و کیفی چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) مطالعه و گزارش کردند که بیشترین عملکرد ماده خشک در نتیجه کاربرد سوپر جاذب و محلول پاشی اسید هیومیک و دور آبیاری هفت‌روز به‌دست آمد. در یک بررسی گزارش شد که کاربرد پنج تا ۱۰ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات کمی و کیفی ذرت نداشت، در حالی که مصرف مقادیر بیشتر سوپر جاذب (۱۵ کیلوگرم در هکتار و بالاتر) عملکرد و اجزای عملکرد ذرت را به میزان قابل توجهی افزایش داد (Mao *et al.*, 2011). در پژوهشی اثر هیدروژل‌های سوپر جاذب بر خصوصیات کمی و کیفی ذرت در شرایط تنش خشکی بررسی و گزارش شد که کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب از طریق افزایش ظرفیت نگهداری آب، کاهش شستشوی مواد غذایی، رشد سریع و مطلوب ریشه و هوادهی بهتر خاک باعث افزایش عملکرد ماده خشک گیاه شد (Kuhestani *et al.*, 2009). استفاده از کودهای آلی بهبود ساختمان خاک و کاهش جرم مخصوص ظاهری آن را به‌همراه دارد، ضمن این‌که سبب افزایش نفوذپذیری خاک، افزایش میزان هوموس و ظرفیت بافری خاک و افزایش برخی آنزیم‌ها و در نتیجه سبب تشدید جمعیت و فعالیت میکروبی خاک می‌گردد (Chatterjee,)

مقدار پایین RMSE (۷/۶۷ درصد) و مقدار بالای ضریب تبیین ($R^2 = 0/96$) در متغیر پاسخ تعداد دانه در بوته نشان‌دهنده برازش عالی مدل در این صفت بود (جدول ۵).

حد اسید هیومیک مصرفی (از ۶ به ۸ کیلوگرم در هکتار)، کاهش ۲۰ درصدی تعداد دانه در بوته را در پی داشت (شکل ۴).



شکل ۴- سطح پاسخ تعداد دانه در بوته لوبیا نسبت به سطوح مختلف سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک در سطح ثابت ۱۵ تن در هکتار کود دامی

Fig. 4. Response surface of seed number per plant in bean affected by different levels of water superabsorbent and humic acid in constant level of 15 t.ha⁻¹ cattle manure

فولویک (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago psyllium* L.) گزارش شد که کاربرد اسید فولویک ضمن بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه، خسارات ناشی از تنش شوری را کاهش داد (Gholami et al., 2013). همسو با نتایج این پژوهش، برخی محققان (Ghorbani et al., 2009) گزارش کردند که کاربرد ۳۵۰۰ گرم در هکتار اسید هیومیک، موجب افزایش قابل توجه تعداد دانه در ردیف و طول بلال ذرت شد. در یک پژوهش گزارش شد که استفاده از نهاده‌های اکولوژیک مختلف (اسید هیومیک، نیتروکسین، میکوریزا و استفاده ترکیبی این کودها) منجر به بهبود خصوصیات کمی و کیفی و به‌ویژه وزن و تعداد دانه در بوته گندم شد (Massoud et al., 2013). در پژوهشی دیگر گزارش شد که کاربرد ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم در هکتار اسید هیومیک، عملکرد دانه و عملکرد ماده خشک تولیدی ذرت را به ترتیب ۲۵ و ۲۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد، ضمن این که در شرایط استفاده از این اسید آلی، وزن هزار دانه و تعداد دانه در بوته نیز در مقایسه با شاهد افزایش یافت (Sarir et al., 2005). کودهای آلی در مقایسه با کودهای شیمیایی دارای مقادیر زیادی مواد آلی هستند و می‌توانند به‌عنوان منابعی غنی از عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن، فسفر و پتاسیم به

به‌نظر می‌رسد که سطوح مختلف سوپرجاذب از طریق بهبود جذب عناصر غذایی و سهولت جذب عناصر ماکرو و میکرو (Eneji et al., 2013) توسط گیاه منجر به بهبود خصوصیات کمی گیاه شدند. در یک پژوهش گزارش شد که کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب، موجب افزایش تعداد خوشه و بذر در بوته یولاف (*Avena sativa*) شد (Islam et al., 2011). Jahan et al., (2011) در یک پژوهش با بررسی اثر سطوح سوپرجاذب و اسید هیومیک در مدارهای آبیاری مختلف بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا قرمز گزارش کردند که کارایی تمامی سطوح سوپرجاذب مورد مطالعه در شرایط استفاده از اسید هیومیک بهبود یافت، بدین ترتیب که در شرایط کاربرد اسید هیومیک کارایی سطوح صفر، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب به ترتیب ۱۹، ۱۸ و ۱۱ درصد نسبت به کاربرد جداگانه آن‌ها افزایش یافت. در پژوهشی اثر سطوح مختلف اسید هیومیک (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم در لیتر) بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی همیشه‌بهار بررسی و گزارش شد که بیشترین تعداد گل و دانه در بوته در اثر کاربرد تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد (Mohammadipour et al., 2012). در پژوهشی دیگر، پس از بررسی اثر سطوح مختلف اسید

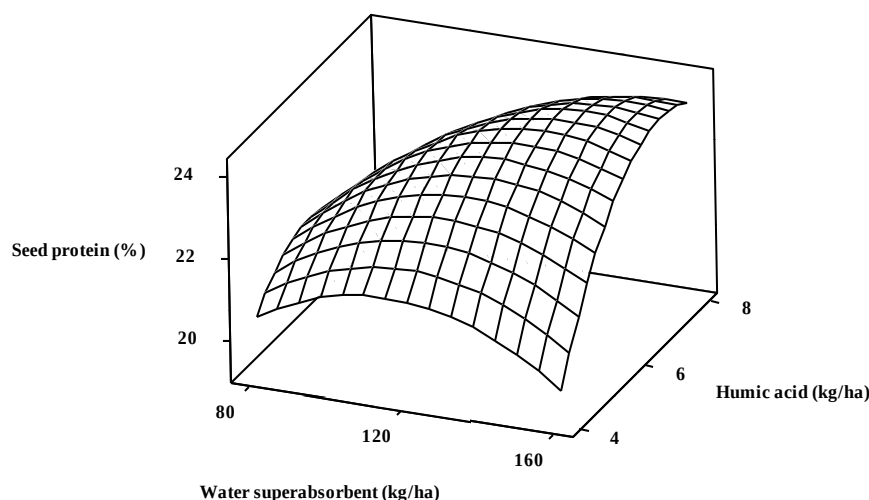
یافت که البته اثرات مثبت سوپرجاذب در بهبود میزان پروتئین دانه در سطوح پایین این کود بارزتر بود، به این ترتیب که افزایش مقدار مصرفی سوپرجاذب از ۸۰ به ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار منجر به افزایش ۹ درصدی میزان پروتئین دانه شد، در حالی که افزایش بیشتر سوپرجاذب مصرفی از ۱۲۰ به ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار افزایش جزئی (۰/۳۸ درصد) میزان پروتئین دانه را به همراه داشت (شکل ۵). افزایش متعادل اسید هیومیک مصرفی (از ۴ به ۶ کیلوگرم در هکتار)، بهبود میزان پروتئین دانه را سبب شد (۹ درصد)، در حالی که استفاده بیش از اندازه از هیومیک کاهش جزئی (سه درصد) میزان پروتئین دانه را در پی داشت (شکل ۵). بیشترین تأثیرگذاری کود دامی در بهبود میزان پروتئین دانه در سطح میانی آن (۱۵ تن در هکتار) حاصل شد، به طوری که میزان پروتئین دانه در این سطح به ترتیب ۲۳ و هشت درصد نسبت به سطوح صفر و ۳۰ تن در هکتار کود دامی بیشتر بود (شکل ۵).

همان طور که در جدول ۵ مشاهده می شود، مقدار RMSE و ضریب تبیین (R^2) برای متغیر پاسخ پروتئین دانه به ترتیب ۲/۹۷ درصد و ۰/۹۴ به دست آمد، در نتیجه برازش مدل در این صفت در کلاس عالی قرار گرفت.

شمار آیند (Azeez et al., 2010) و به مرور این عناصر را در اختیار گیاه قرار دهند (Lee, 2010)، ضمن این که این کودها به طور مؤثری منجر به بهبود ساختمان فیزیکی و ذخیره رطوبت خاک می شوند (Mao et al., 2008). Albiach et al. (2001) گزارش کردند که کاربرد ۲۴ تن در هکتار ورمی کمپوست طی چهار سال، پارامترهای موجود در خاک شامل ماده آلی، اسید هیومیک، جمعیت میکروارگانیسم ها و پایداری ساختمان خاک را به طور معنی داری افزایش داد. در یک پژوهش، اثر کودهای مختلف بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris*) و مرزنجوش (*Origanum majorana*) بررسی و گزارش شد که کاربرد ۹ تن در هکتار کود کمپوست خصوصیات کمی گیاهان مذکور را به میزان قابل توجهی بهبود بخشید (Csizinszky, 2002).

پروتئین دانه

اثرات درجه خطی سوپرجاذب و کود دامی و اثرات درجه دو اسید هیومیک و کود دامی بر میزان پروتئین دانه معنی دار بود (جدول ۳). اثرات متقابل سوپرجاذب و اسید هیومیک نیز تأثیر معنی داری بر میزان پروتئین دانه داشت (جدول ۳). با افزایش مقادیر مصرفی سوپرجاذب، میزان پروتئین دانه افزایش



شکل ۵- سطح پاسخ پروتئین دانه لوبیا نسبت به سطوح مختلف سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک در سطح ثابت ۱۵ تن در هکتار کود دامی

Fig. 5. Response surface of bean seed protein affected by different levels of water superabsorbent and humic acid in constant level of 15 t.ha⁻¹ cattle manure

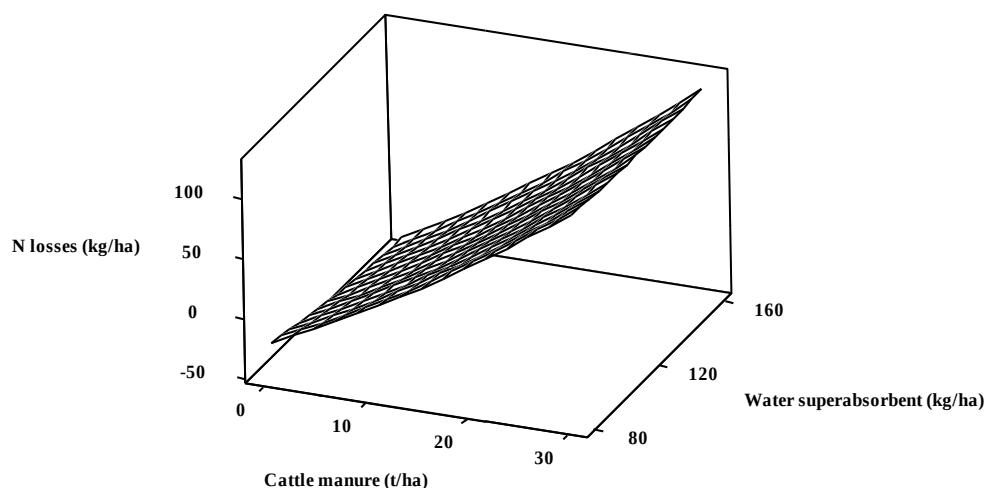
خاک) باشد (Samavat & Malakuti, 2006). Amiri (2015) پس از بررسی اثر اسیدهای آلی بر خصوصیات کمی و کیفی گاو زبان ایرانی گزارش کرد که اسیدهای آلی هیومیک و

تأثیر اسید هیومیک بر رشد گیاه ممکن است به صورت مستقیم (افزایش کل وزن خشک گیاه) و یا به صورت غیرمستقیم (افزایش راندمان مصرف کود و کاهش فشردگی

تلفات نیتروژن

تلفات نیتروژن تحت تأثیر اثرات خطی کود دامی قرار گرفت (جدول ۳). همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، با افزایش مقادیر مصرفی سوپرجاذب، میزان تلفات نیتروژن کاهش یافت. کاربرد ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب به جای ۸۰ کیلوگرم در هکتار از این کود منجر به کاهش ۱۷ درصدی میزان تلفات نیتروژن شد و در سطوح بالاتر سوپرجاذب (کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب به جای ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار از این کود) هشت درصد از هدررفت نیتروژن کاسته شد (شکل ۶). با افزایش میزان استفاده از کود دامی، مقدار تلفات نیتروژن افزایش یافت و در هر یک از سطوح ۱۵ و ۳۰ تن در هکتار کود دامی، میزان تلفات نیتروژن به ترتیب ۹۱ و ۹۵ درصد نسبت به شرایطی که از این کود استفاده نشد، افزایش یافت. به نظر می‌رسد که احتمالاً میزان نیتروژن آزاد شده توسط سطوح بالای کود دامی بیش از نیاز گیاه بوده و در نتیجه گیاه آنها را جذب نکرده و میزان تلفات نیتروژن افزایش یافته است. کمترین میزان تلفات نیتروژن در سطح میانی اسید هیومیک (۶ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد، به طوری که میزان تلفات نیتروژن در این سطح ۱۴ و شش درصد به ترتیب نسبت به سطوح ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار کمتر بود (شکل ۶). مقدار پایین RMSE (۱/۸۸ درصد) و مقدار بالای ضریب تبیین ($R^2 = 0.99$) در متغیر پاسخ تلفات نیتروژن، بیانگر برازش خوب مدل در این صفت بود (شکل ۶).

فولویک روغن دانه را به ترتیب ۱۱ و هشت درصد و پروتئین دانه را به ترتیب ۲۱ و ۲۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. در پژوهش دیگری، اثر محلول پاشی اسید هیومیک بر عملکرد گل، عملکرد زیست توده و نیز غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و کلسیم اندام‌های گل و برگ گاو زبان اروپایی (*Borage officinalis* L.) مثبت گزارش شد (Heidari & Minayee, 2014). به نظر می‌رسد که سطوح مختلف سوپرجاذب از طریق کاهش نیاز آبی گیاه (Xie et al., 2011) و کاهش تبخیر آب از سطح خاک (Nykanen et al., 2011)، منجر به کاهش شدت تنش خشکی شدند و در نتیجه میزان پروتئین دانه افزایش یافت. در آزمایشی اثر مقادیر مختلف سوپرجاذب و مدار آبیاری بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد که با افزایش مقادیر مصرفی سوپرجاذب، عملکرد دانه، وزن صد دانه، تعداد غلاف در بوته و عملکرد روغن به میزان قابل توجهی نسبت به شاهد افزایش یافت (Yazdani et al., 2012). بر اساس گزارش (Khandan et al., 2003)، کودهای آلی با افزایش جذب عناصر توسط گیاه میزان نیتروژن دانه و به تبع آن میزان پروتئین دانه اسفزه را در مقایسه با شاهد بهبود بخشیدند. در یک پژوهش، کاربرد پنج و ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست نیتروژن دانه آنیسون (*Pimpinella anisum* L.) و به تبع آن پروتئین دانه را به ترتیب ۱۱ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (Khalesroo et al., 2011).



شکل ۶- سطح پاسخ تلفات نیتروژن در لوبیا نسبت به سطوح مختلف سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک در سطح ثابت ۶ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک

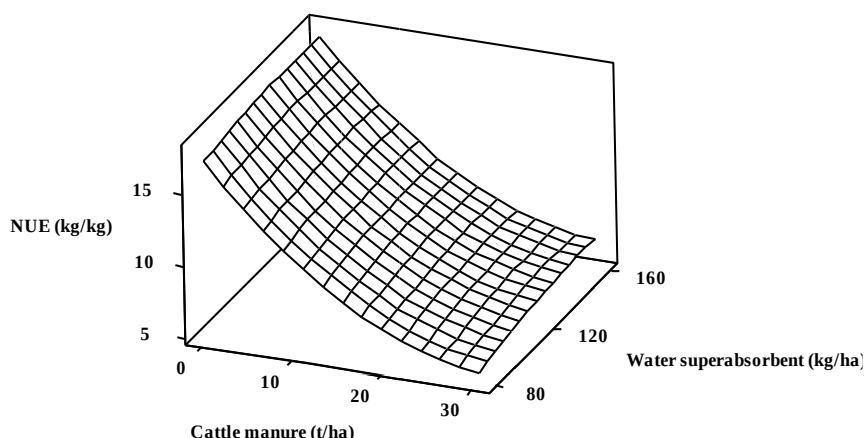
Fig. 6. Response surface of N losses in bean affected by different levels of water superabsorbent and humic acid in constant level of 6 kg.ha⁻¹ humic acid

را بر میزان تلفات نیتروژن در زراعت گندم بررسی و گزارش کردند که تلفات نیتروژن در مقادیر بالای مصرف منابع افزایش یافت. Harper *et al.*, (1987) گزارش کردند که ۵۲ تا ۷۳ درصد از کود نیتروژن مصرفی در کشت ذرت جذب نشده و تلف می‌گردد.

کارایی مصرف نیتروژن

اثرات خطی سوپر جاذب و کود دامی و اثرات درجه دو اسید هیومیک و کود دامی بر کارایی مصرف نیتروژن معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش مقادیر مصرفی سوپر جاذب به کارایی مصرف نیتروژن افزوده شد و افزایش متعادل اسید هیومیک (تا سطح ۶ کیلوگرم در هکتار) نیز در بهبود کارایی مصرف نیتروژن مؤثر بود (شکل ۷). کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب به ترتیب منجر به افزایش ۹ و یک درصدی کارایی مصرف نیتروژن نسبت به سطوح ۸۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار این کود شد (شکل ۷). کارایی مصرف نیتروژن در سطح ۶ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به ترتیب ۱۶ و ۱۳ درصد نسبت به سطوح ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار بیشتر بود (شکل ۷). کاربرد ۱۵ و ۳۰ تن در هکتار کود دامی، به ترتیب کاهش ۴۹ و ۶۸ درصدی کارایی مصرف نیتروژن را نسبت به شرایط عدم کاربرد این کود در پی داشت (شکل ۷).

در پژوهشی گزارش شد که کاربرد سوپر جاذب در خاک، با بهبود ساختار خاک منجر به کاهش تلفات نیتروژن (به شکل اوره) در خاک شد (Zhong *et al.*, 2012) و از آبشویی این عنصر به اعماق زمین جلوگیری کرد. Jahan *et al.*, (2013) اثر سطوح سوپر جاذب را در مدارهای آبیاری مختلف بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه ذرت مطالعه و گزارش کردند که در اکثر صفات تیمار ۸۰ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب برترین تیمار بود. به نظر می‌رسد که اسید هیومیک احتمالاً از طریق بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی دخیل در جذب آب توسط ریشه (Verlinden *et al.*, 2009)، از نفوذ آب به اعماق بیشتر و آب‌شویی عناصر غذایی کاسته است و در نتیجه در شرایط استفاده از سطوح میانی اسید هیومیک میزان تلفات نیتروژن کاهش یافت. در یک پژوهش، اثر اسید هیومیک بر خصوصیات رشدی فلفل مطالعه و گزارش شد که سطوح ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک، افزایش طول هیپوکوتیل، قطر و طول ساقه، وزن خشک، میزان عناصر غذایی و عملکرد گیاه را به همراه داشت (Turkmen *et al.*, 2005). در پژوهشی دیگر Jahan *et al.*, (2015b) گزارش کردند که با افزایش سطوح کود نیتروژن (اوره) و کود دامی میزان تلفات نیتروژن در زراعت گندم افزایش یافت. Koocheki *et al.*, (2015) سطح پاسخ تأثیر کود نیتروژن و مقادیر مختلف آبیاری

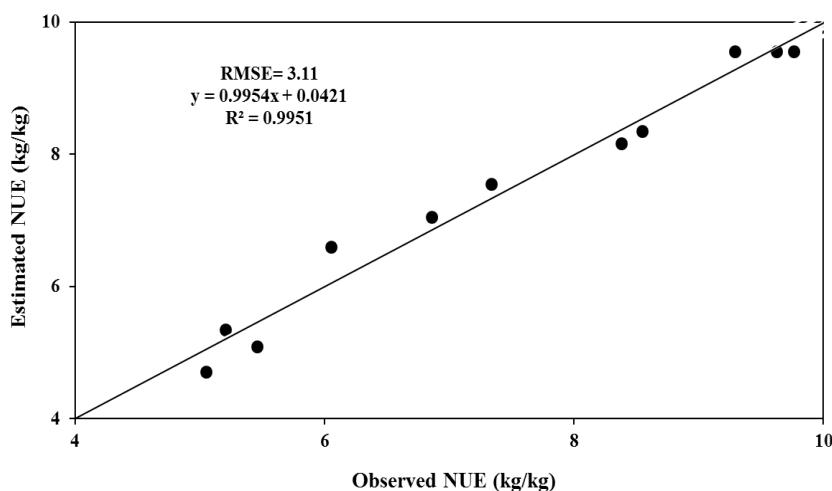


شکل ۷- سطح پاسخ کارایی مصرف نیتروژن در لوبیا نسبت به سطوح مختلف سوپر جاذب رطوبت و اسید هیومیک در سطح ثابت ۶ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک

Fig. 7. Response surface of Nitrogen use efficiency (NUE) in bean affected by different levels of water superabsorbent and humic acid in constant level of 6 kg.ha⁻¹ humic acid

($R^2 = 0.99$) در متغیر پاسخ کارایی مصرف نیتروژن، بیانگر برازش عالی مدل در این صفت بود.

همان‌طور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود، مقادیر پایین RMSE (۳/۱۱ درصد) و مقدار بالای ضریب تبیین



شکل ۸ - خط رگرسیون مقادیر برازش داده شده و مشاهده شده برای کارایی مصرف نیتروژن در لوبیا و مقدار RMSE با توجه به مدل رگرسیون درجه دو کامل

Fig. 8. Regression line equation of the fitted and observed values for NUE in bean and the RMSE values based on model of full quadratic regression

در سناریوی اقتصادی به ترتیب با مصرف ۱۴۳/۸۳ و ۶/۱۴ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب و اسید هیومیک و ۲۲/۱۲ تن در هکتار کود دامی، عملکرد دانه‌ای معادل ۱۶۱۳ کیلوگرم در هکتار به دست آمد، ضمن این که با مصرف مقادیر بهینه منابع در این سناریو عملکرد ماده خشک، تعداد دانه در بوته، پروتئین دانه، میزان تلفات نیتروژن و کارایی مصرف نیتروژن به ترتیب معادل ۲۳۴۵۵ کیلوگرم در هکتار، ۱۰۷ دانه در بوته، ۲۳/۸۸ درصد، ۶۹/۴۰ کیلوگرم در هکتار و ۷/۶۱ کیلوگرم دانه در کیلوگرم نیتروژن برآورد شد (جدول ۶).

مقادیر بهینه منابع در سناریوی زیست محیطی به ترتیب ۱۶۰ و ۵/۲۶ کیلوگرم در هکتار سوپر جاذب و اسید هیومیک و صفر تن در هکتار کود دامی تخمین زده شد، در نتیجه به نظر می‌رسد برای کاهش خطرات زیست محیطی باید استفاده از نهاده‌هایی نظیر سوپر جاذب و کود دامی را به حداقل رساند (جدول ۶). در این سناریو میزان تلفات نیتروژن نسبت به سناریوی اقتصادی به شدت (۹۵ درصد) کاهش یافت، که البته این امر کاهش ۲۰ درصدی عملکرد دانه را نسبت به سناریوی اقتصادی در پی داشت (جدول ۶). در سناریوی زیست محیطی، گیاه از کارایی مصرف نیتروژن بیشتری نسبت به سناریوی اقتصادی برخوردار بود (جدول ۶).

در سناریوی اقتصادی-زیست محیطی، هر دو جنبه سوددهی اقتصادی و کاهش مخاطرات زیست محیطی مورد توجه قرار گرفت و در نتیجه این سناریو از اولویت بیشتری نسبت به دو سناریوی دیگر برخوردار بود. مقدار بهینه منابع در این سناریو به ترتیب ۱۳۱/۷۱ و ۶/۰۲ کیلوگرم در هکتار

در مطالعات مختلف نشان داده شده است که تعدیل در مصرف کودهای نیتروژنه می‌تواند منجر به بهبود کارایی مصرف این عنصر توسط گیاه شود (Calderini et al., 1995; Gan et al., 2008). Jahan et al, (2015b) گزارش کردند که کارایی مصرف نیتروژن در گندم با افزایش سطوح مصرف کود نیتروژن کاهش یافت. Marino et al, (2004) گزارش کردند که کارایی مصرف نیتروژن در گندم با افزایش سطح کود نیتروژن از ۵۰ به ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار، ۶۰ درصد کاهش و از ۴۴/۲ به ۱۷/۶ کیلوگرم ماده خشک به کیلوگرم نیتروژن رسید. در یک پژوهش اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و آبیاری بر کارایی مصرف نیتروژن در زراعت گندم بررسی و گزارش شد که با افزایش کوددهی، کارایی مصرف نیتروژن کاهش نشان داد، به طوری که کمترین میزان کارایی مصرف نیتروژن در تیمار کودی ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار و ۲۵۰۰ مترمکعب در هکتار آبیاری به دست آمد (Koocheki et al., 2015).

بهینه‌سازی منابع

در این پژوهش بهینه‌سازی منابع از سه منظر اقتصادی، زیست محیطی و اقتصادی-زیست محیطی مورد بررسی قرار گرفت. در سناریوی اقتصادی، عملکرد دانه، در سناریوی زیست محیطی میزان تلفات نیتروژن و در سناریوی اقتصادی-زیست محیطی عملکرد دانه، میزان تلفات نیتروژن و کارایی مصرف نیتروژن به عنوان عوامل اصلی تعیین کننده مقادیر بهینه منابع در نظر گرفته شدند.

سوپرجاذب و اسید هیومیک و ۳۰/۰ تن در هکتار کود دامی برآورد شد که در این شرایط مدل، دستیابی به عملکرد دانه‌ای معادل ۱۳۸۳ کیلوگرم در هکتار را پیش‌بینی کرد (جدول ۶). مصرف مقادیر بهینه منابع در سناریوی اقتصادی-زیست‌محیطی

منجر به حصول ۱۵۵۶۹ کیلوگرم در هکتار عملکرد ماده خشک، ۵۶ دانه در بوته، ۱۸/۸۳ درصد پروتئین دانه، ۳۹/۰۸-کیلوگرم در هکتار تلفات نیتروژن و ۱۷/۵۳ کیلوگرم دانه در کیلوگرم نیتروژن کارایی مصرف نیتروژن شد (جدول ۶).

جدول ۶- مقادیر بهینه‌سازی شده سوپرجاذب رطوبت، اسید هیومیک و کود دامی به منظور دستیابی به متغیرهای وابسته مورد انتظار در سناریوهای مختلف

Table 6. Optimized values of water superabsorbent, humic acid and cattle manure in order to achieve expected dependent variables in different scenarios

	سناریوهای مختلف Different scenarios	اقتصادی-زیست‌محیطی Eco-Environmental		
		اقتصادی Economic	زیست‌محیطی Environmental	زیست‌محیطی-اقتصادی Eco-Environmental
متغیرهای مستقل (X) Independent variables (X)	سوپرجاذب (kg ha ⁻¹) Superabsorbent	143.83	160	131.71
	اسید هیومیک (kg ha ⁻¹) Humic acid	6.14	5.26	6.02
	کود دامی (t ha ⁻¹) Cattle manure	22.12	0	0.30
متغیرهای وابسته (Y) Dependent variables (Y)	عملکرد دانه (kg ha ⁻¹) Seed yield	1613	1294	1383
	عملکرد ماده خشک (kg ha ⁻¹) Dry matter yield	23455	13575	15569
	تعداد دانه در بوته Seed number per plant	107	39	56
	پروتئین دانه (%) Seed protein	23.88	17.46	18.83
	تلفات نیتروژن (kg ha ⁻¹) N losses	69.40	-45.10	-39.08
	کارایی مصرف نیتروژن (kg seed kg ⁻¹ N) NUE	7.61	17.42	17.53

Koocheki et al, (2015) گزارش کردند که در سناریوی اقتصادی، دستیابی به ۴۰۴۵ کیلوگرم در هکتار عملکرد دانه گندم در شرایط کاربرد ۲۷۴ کیلوگرم در هکتار کود اوره و ۳۹۶۴ مترمکعب در هکتار آب محقق شد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که اثرات خطی سوپرجاذب رطوبت و کود دامی بر تمامی صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود، در حالی که اثر خطی اسید هیومیک بر هیچ‌یک از صفات اثر چندانی نداشت. کلیه صفات مورد مطالعه تحت تأثیر اثرات درجه دو اسید هیومیک و کود دامی (به‌جز صفت میزان تلفات نیتروژن) قرار گرفتند، ضمن این‌که اثرات درجه دو سوپرجاذب تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین دانه داشت. با مقایسه شکل‌های ۱ و ۳ مشاهده شد که با افزایش مقادیر مصرفی سوپرجاذب و اسید هیومیک، روند تغییرات عملکرد دانه و عملکرد ماده خشک مشابه بود، به‌این ترتیب که بیشترین سوپرجاذب مصرفی (۱۶۰ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد، درحالی‌که افزایش اسید هیومیک مصرفی از ۴ به ۶ و از ۶ به ۸ کیلوگرم در هکتار به ترتیب منجر به افزایش و کاهش عملکرد

در یک پژوهش Jahan et al., (2015d) با استفاده از طرح مرکب مرکزی، مقادیر بهینه سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک را در شرایط کم‌آبیاری در زراعت ذرت تعیین و گزارش کردند که در سناریوی اقتصادی با مصرف به‌ترتیب ۱۲۶/۰۶ و ۷/۱۹ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب رطوبت و اسید هیومیک و ۳۴۷/۴۷ مترمکعب در هکتار آبیاری عملکرد دانه‌ای معادل ۲۶۷۱۰ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. در پژوهشی دیگر، Jahan et al., (2015b) پس از بررسی مقادیر بهینه کودهای نیتروژن، فسفر و دامی در زراعت گندم گزارش کردند که در سناریوی اقتصادی، مصرف ۱۴۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص، ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و ۱۸ تن در هکتار کود دامی منجر به تولید ۶۵۰۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد دانه شد و در سناریوی زیست‌محیطی با مصرف ۲۱ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص، بدون کاربرد فسفر و مصرف ۱۶ تن در هکتار کود دامی، عملکرد دانه‌ای معادل با ۳۱۶۰ کیلوگرم در هکتار حاصل شد. Mansoori et al, (2014) گزارش کردند که در سناریوی اقتصادی-زیست‌محیطی مقدار بهینه کود نیتروژن، آبیاری و تراکم بوته موسیر (*Allium hritifolium*) به‌ترتیب معادل ۱۶۹ کیلوگرم کود اوره در هکتار، ۲۰۲۵ مترمکعب در هکتار آبیاری و ۱۷/۷ بوته در مترمربع برآورد شد.

برخی نهادهای برون‌مزرعه‌ای نظیر کود دامی را به‌حداقل رساند، در حالی که افزایش ۱۰ درصدی سوپرجاذب مصرفی در سناریو زیست‌محیطی نسبت به سناریو اقتصادی منجر به کاهش تلفات نیتروژن شد. از آنجایی که در سناریوی اقتصادی-زیست‌محیطی از ابعاد مختلف به بهینه‌سازی منابع توجه می‌شود، به‌نظر می‌رسد استفاده از مقادیر بهینه منابع در این سناریو (به‌ترتیب ۱۳۱/۷۱ و ۶/۰۲ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب و اسید هیومیک و ۳۰/۳ تن در هکتار کود دامی) مناسب‌ترین سطوح نهادهای مصرفی در این پژوهش باشد.

سیاسگزاری

هزینه انجام این تحقیق توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح پژوهش به‌شماره ۳۰۷۴۸/۲ مصوب ۱۳۹۳/۰۳/۰۳ تأمین شده است که بدین‌وسیله قدردانی می‌شود.

دانه و عملکرد ماده خشک شد. بیشترین تأثیرگذاری کود دامی بر عملکرد دانه و عملکرد ماده خشک در سطح میانی آن (۱۵ تن در هکتار) مشاهده شد. مشابهت شکل‌های ۱ (سطح پاسخ عملکرد دانه) و ۴ (سطح پاسخ تعداد دانه در بوته) بر این نکته دلالت داشت که احتمالاً می‌توان با استفاده از نهادهایی که تعداد دانه در بوته را افزایش می‌دهند، عملکرد دانه را ارتقاء بخشید. افزایش بیش از حد اسید هیومیک و کود دامی (در بالاترین سطح هر یک از این نهادهای) منجر به کاهش میزان پروتئین دانه شد. با توجه به مقایسه شکل‌های ۶ و ۷، تیمارهای مؤثر در کاهش تلفات نیتروژن، افزایش کارایی مصرف نیتروژن را در پی داشتند، به‌عنوان مثال کمترین میزان تلفات نیتروژن و به دنبال آن بیشترین کارایی مصرف نیتروژن در بالاترین سطح سوپرجاذب مصرفی (۱۶۰ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد. مقادیر RMSE و ضریب تبیین متغیرهای پاسخ حاکی از برازش عالی مدل در تمامی صفات مورد مطالعه، به استثنای میزان تلفات نیتروژن بود. مقایسه سناریوهای مختلف نشان داد که برای کاهش مخاطرات زیست‌محیطی باید مصرف

منابع

1. Abedi-Koupai, J., Sohrab, J., and Swarbrick, G. 2008. Evaluation of hydrogel application on soil water retention characteristics. *Journal of Plant Nutrition* 31: 317-331.
2. Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., and Ingelom, F. 2001. Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendements to a horticultural soil. *Bioresource Technology* 76: 125-129.
3. Amiri, M.B. 2015. Study of ecological and agronomic characteristics of *Echium amoenum* in Mashhad conditions. Ph.D Thesis of Agroecology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Abstract).
4. Aslan, N. 2007. Application of response surface methodology and central composite rotatable design for modeling the influence of some operating variables of a multi-gravity separator for chromite concentration. *Powder Technology* 86: 769-776.
5. Azeez, J.O., Van Averbeke, W., and Okorogbona, A.O.M. 2010. Differential responses in yield of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) and nightshade (*Solanum retroflexum* Dun.) to the application of three animal manures. *Bioresource Technology* 101: 2499-2505.
6. Botella, M.A., Cerda, A., Martinez, V., and Lips, S.H. 1994. Nitrate and ammonium uptake by wheat seedlings as affected by salinity and light. *Journal of Plant Nutrition* 17: 839-850.
7. Brussard, L., and Ferrera-Cenato, R. 1997. Soil ecology in sustainable agricultural systems. New York: Lewis publishers, U.S.A, 168p.
8. Calderini, D., Torres- Leon, F., and Slafer, G.A. 1995. Consequences of wheat breeding on nitrogen and phosphorus yield, grain nitrogen and phosphorus concentration and associated traits. *Annals of Botany* 76: 315-322.
9. Chatterjee, S.K. 2002. Cultivation of medicinal and aromatic plants in India. *Acta Horticulture (ISHS)* 576: 485-494.
10. Csizinszky, A.A. 2002. Reduced input production of herbs under sub-tropical conditions in Florida. XXVIth International Horticultural Congress. 11-17 August, Toronto, Ontario. p. 196.
11. El Gendy, S.A., Hosni, A.M., Omer, E.A., and Reham, M.S. 2001. Variation in herbage yield, essential oil yield and oil composition on sweet basil (*Ocimum basilicum*) grown organically in a newly reclaimed land in Egypt. *Arab Universities Journal of Agricultural Science* 9: 915-933.
12. Eneji, A.E., Islam, R., An, P., and Amalu, U.C. 2013. Nitrate retention and physiological adjustment of maize to soil amendment with superabsorbent polymers. *Journal of Cleaner Production* 52: 474-480.

13. Fazeli Rostampoor, M., Seghatoleslami, M.J., and Moosavi, S.Gh. 2011. Effect of water stress and water superabsorbent on yield and water use efficiency of *Zea mays* L. in Birjand region. Iranian Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 4: 11-19. (In Persian with English Abstract).
14. Gan, Y., Malhi, S.S., Brandt, S., Katepa-Mupondwa, F., and Stevanson, C. 2008. Nitrogen use efficiency and nitrogen uptake of juncea Canola under diverse environments. Agronomy Journal 100: 285-295.
15. Gholami H., Samavat S., and Ardebili Z.O. 2013. The alleviating effects of humic substances on photosynthesis and yield of *Plantago ovate* in salinity conditions. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 4: 1683-1686.
16. Ghorbani, S., Khazaei, H.R., Kafi, M., and Banayan Aval, M. 2009. Effect of humic acid application in water of irrigation on yield and yield components of *Zea mays* L. Iranian Journal of Agroecology 2: 123-131. (In Persian with English Abstract).
17. Harper, L.A., Sharpe, R.R., Langdale, G.W., and Giddens, J.E. 1987. Nitrogen cycling in a wheat crop: soil, plant and aerial nitrogen transport. Agronomy Journal 79: 965-973.
18. Heidari, M., and Khalili, S. 2014. Effect of humic acid and phosphorous fertilizer on flower and seed yield, photosynthetic pigments and amounts of minerals in *Hibiscus sabdariffa* L. Iranian Journal of Crops of Iran 45: 191-199. (In Persian with English Abstract).
19. Heidari, M., and Minayee, A. 2014. Effect of drought stress and humic acid on flower yield and the concentration of macro nutrients in *Borago officinalis* L. Iranian Journal of Plant Production 21: 167-183. (In Persian with English Abstract).
20. Horwitz, W., and Latimer, G.W. 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 18th Edition. Maryland, USA.
21. Islam, M.R., Eneji, A.E., Ren, C., Li, J., and Hu, Y. 2011. Impact of water-saving superabsorbent polymer on oat (*Avena* spp.) yield and quality in an arid sandy soil. Scientific Research and Essays 6: 720-728.
22. Jahan, M., Koocheki, A., Nassiri, M., and Dehghanipoor, F. 2007. The effects of different manure levels and two branch management methods on organic production of *Cucurbita pepo* L. Iranian Journal of Field Crops Research 5: 1-9. (In Persian with English Abstract).
23. Jahan, M., Sohrabi, R., Doayee, F., and Amiri, M.B. 2011. Effect of superabsorbent water application in soil and humic acid foliar application on some agroecological characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Mashhad (Iran). Iranian Journal of Ecological Agriculture 2: 71-90. (In Persian with English Abstract).
24. Jahan, M., Kamayestani, N., and Ranjbar, F. 2013. Assay for applying super absorbent polymer in a low input corn (*Zea mays* L.) production system aimed to reduce drought stress under Mashhad conditions. Iranian Journal of Agroecology 5: 272-281. (In Persian with English Abstract).
25. Jahan, M., Nassiri Mahallati, M., Ranjbar, F., Aryaee, M., and Kamayestani, N. 2015a. The effects of super absorbent polymer application into soil and humic acid foliar application on some agrophysiological criteria and quantitative and qualitative yield of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under Mashhad conditions. Iranian Journal of Agroecology 6: 753-766. (In Persian with English Abstract).
26. Jahan, M., Nasiri Mahallati, M., Khalilzade, H., Bigonah, R., and Razavi, A.R. 2015b. Using response-surface methodology for optimizing nitrogen, phosphorus and cattle manure fertilizers application in winter wheat production. Iranian Journal of Field Crops Research 13(4): 823-839. (In Persian with English Abstract).
27. Jahan, M., Ghalenoee, Sh., Khamooshi, A., and Amiri, M.B. 2015c. Evaluation of agroecological characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by application of water-saving superabsorbent and humic acid under irrigation intervals. Iranian Journal of Horticultural Sciences 29(2): 240-254. (In Persian with English Abstract).
28. Jahan, M., Amiri, M.B., and Noorbakhsh, F. 2015d. Evaluation of the increased rates of water superabsorbent and humic acid application under deficit irrigation condition on some agroecological characteristics of *Zea mays* by using response surface methodology. Iranian Journal of Field Crops Research 14(4): 746-764. (In Persian with English Abstract).
29. Jarvis, S., Hutchings, N., Brentrup, F., Olesen, J.E., and Van Der Hock, K.W. 2011. Nitrogen flows in farming systems across Europe. In: The European Nitrogen Assessment: source, effects and policy perspectives. Sutton, M.A., Howard, C.M., Erisman, J.W., Billen, G., Bleeker, G., Grennfelt, A., Grinsven, H.V., and Grizzetti, B. 2011. Cambridge University Press. Part 3, Chapter 10.
30. Kalra, A. 2003. Organic Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. A Hope for Sustainability and Quality Enhancement. Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs). FAO.

31. Khalesroo, Sh., Ghalavand, A., Sefidkan, F., and Asgharzade, A. 2011. Effect of biofertilizers and organic fertilizers on quantitative and qualitative of oil and absorption of nutrients in *Pimpinella anisum* L. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants 27: 551-560. (In Persian with English Abstract).
32. Khandan, A., Astaraee, A., Nassiri Mahallati, M., and Fotovat, A. 2003. Effect of organic and chemical fertilizers on yield and yield components of *Plantago psyllium* L. Iranian Journal of Field Crops Research 3: 245-253. (In Persian with English Abstract).
33. Koocheki, A., Nasiri Mahallati, M., Fallahpoor, F., and Amiri, M.B. 2015. Optimization of nitrogen fertilizer and irrigation in wheat cultivation by central composite design. Journal of Agroecology, In Press. (In Persian with English Abstract).
34. Kuhestani, Sh., Asgari, N., and Maghsudi, K. 2009. Assessment effects of super absorbent hydro gels on corn yield (*Zea mays* L.) under drought stress condition. Iranian water Research Journal 4: 57-67. (In Persian with English Abstract).
35. Lee, J. 2010. Effect of application methods of organic fertilizer on growth, soil chemical properties and microbial densities in organic bulb onion production. Scientia Horticulturae 124: 299-305.
36. Maerere, A.P., Kimbi, G.G., and Nonga, D.L.M. 2001. Comparative effectiveness of animal manures on soil chemical properties, yield and root growth of amaranthus (*Amaranthus cruentus* L.). African Journal of Environmental Science and Technology 1: 14-21.
37. Mansoori, H., Banayan Aval, M., Rezvani Moghaddam, P., and Lakzian, A. 2014. Management of nitrogen fertilization, irrigation and planting density in *Allium hirtifolium* by using central composite optimizing method. Iranian Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production 24: 40-60. (In Persian with English Abstract).
38. Mao, J., Olk, D.C., Fang, X., He, Z., and Schmidt-Rohr, K. 2008. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid-state NMR and FT-IR spectroscopy. Geoderma 146: 353-362.
39. Mao, S., Islam, M.R., Xue, X., Yang, X., Zhao, X., and Hu, Y. 2011. Evaluation of a water-saving superabsorbent polymer for corn (*Zea mays* L.) production in arid regions of Northern China. African Journal of Agricultural Research 6: 4108-4115.
40. Marino, M.A., Mazzanti, A., Assuero, S.G., Gastal, F., Echeverria, H.E., and Andrade, F. 2004. Nitrogen dilution curves and nitrogen use efficiency during winter-spring growth of annual ryegrass. Agronomy Journal 96: 601-607.
41. Massoud, O.N., Afifi, M.M.I., El-Akshar, Y.S., and El-Sayed, G.A.M. 2013. Impact of biofertilizers and humic acid on the growth and yield of wheat grown in reclaimed sandy soil. Research Journal of Agriculture and Biological 9: 104-113.
42. Mohammadipour, E., Golchin, A., Mohammadi, J., Negahdar, N., and Zarchini, M. 2012. Effect of humic acid on yield and quality of marigold (*Calendula officinalis* L.). Annals of Biological Research 3: 5095-5098.
43. Monnig, S. 2005. Water saturated superabsorbent polymers used in high strength concrete. Otto Graf Journal 16: 193-202.
44. Myers, R.H., and Montgomery, D.C. 1995. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments. John Wiley & Sons, New York, USA.
45. Natesan, R., Kandasamy, S., Thiyareshwari, S., and Boopathy, P.M. 2007. Influence of lignite humic acid on the micronutrient availability and yield of blackgram in an alfisol. Science World Journal 7: 1198-1206.
46. Nykanen, V.P.S., Nykanen, A., Puska, M.A., Goulart-Silva, G., and Ruokolainen, J. 2011. Dual-reponsive and super absorbing thermally cross-linked hydrogel based on methacrylate substituted polyphosphazene. Soft Matter 7: 4414-4424.
47. Paksoy, M., and Aydin, C. 2004. Some physical properties of edible squash (*Cucurbita pepo* L.) seeds. Journal of Food Engineering 65: 225-231.
48. Pimentel, D. 1993. Economics and energies of organic and conventional farming. Journal of Agricultural and Environmental Ethics 6: 53-60.
49. Rathke, G.W., Behrens, T., and Diepenbrock, W. 2006. Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica Napus* L.): A review. Agriculture, Ecosystems and Environment 117: 80-108.
50. Rentato, Y., Ferreira, M.E., Cruz, M.C., and Barbosa, J.C. 2003. Organic matter fraction and soil fertility the influence of liming vermicompost and cattle manure. Bioresource Technology 60: 59-63.
51. Samavat, S., and Malakuti, M. 2006. Important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. Water and Soil Researchers Technical 463: 1-13.

52. Sarir, M.S., Sharif, M., Ahmed, Z., and Akhlaq, M. 2005. Influence of different levels of humic acid application by various methods on the yield and yield components of maize. *Sarhad. Jouranl of Agriculture* 21: 75-81.
53. Schiffer, M.C., Ronzelli, P., and Koehler, H.S. 1993. Influence of organic fertilization on the biomass, yield composition of the essential oil of *Achillea millefolium* L. *Acta Horticulture* 331: 109-114.
54. Shahryari, R., Gurbanov, E., Gadimov, A., and Hassanpanah, D. 2008. In vitro effect of potassium humate on terminal drought tolerant bread wheat. *Proceedings of the 14th meeting of International Humic Substances Society*.
55. Sharma, A.K. 2002. A handbook of organic farming. Publication Agrobios, India.
56. Sidari, M., Attina, E., Francioso, O., Tugnoli, V., and Nardi, S. 2006. Biological activity of humic substances is related to their chemical structure. *Soil Science Society of America Journal* 71: 75-85.
57. Turkmen, O., Demir, S., Sensoy, S., and Dursun, A. 2005. Effect of arbuscular mycorrhizal fungus and humi acid on the seedling development and nutrient content of pepper grown under saline soil conditions. *Journal of Biological Sciences* 5: 565-574.
58. Verlinden, G., Pycke, B., Mertens, J., Debersaques, F., Verheyen, K., Baert, G., Bries, J., and Haesaert, G. 2009. Application of humic substances results in consistent increases in crop yield and nutrient uptake. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1407-1426.
59. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil* 255: 571-586.
60. Wu, C.F.J., and Hamada, M. 2000. *Experiments: Planning, Analysis, and Parameter Design Optimization*. New York.
61. Xie, L., Liu, M., Ni, B., Zhang, X., and Wang, Y. 2011. Slow-release nitrogen and boron fertilizer from a functional superabsorbent formulation based on wheat straw and attapulgit. *Chemical Engineering Journal* 167: 342-348.
62. Yazdani, F., Allahdadi, I., and Akbari, G.A. 2012. Impact of superabsorbent polymer on yield and growth analysis of soybean (*Glycine max* L.) under drought stress condition. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10: 4190-4196.
63. Zhong, K., Zheng, X.L., Mao, X.Y., Lin, Z.T., and Jiang, G.B. 2012. Sugarcane bagasse derivative-based superabsorbent containing phosphate rock with water-fertilizer integration. *Carbohydrate Polymers* 90: 820-826.
64. Zhong, K., Lin, Z.T., Zheng, X.L., Jiang, G.B., Fang, Y.S., Mao, X.Y., and Liao, Z.W. 2013. Starch derivative-based superabsorbent with integration of water-retaining and controlled-release fertilizers. *Carbohydrate Polymers* 92: 1367-1376.
65. Zhou, D.M., Hao, X.Z., Wang, Y.J., Dong, Y.H., and Cang, L. 2005. Copper and Zn uptake by radish and pakchoi as affected by application of livestock and poultry manures. *Chemosphere* 59: 167-175.

Evaluation and comparison of different economic and environmental scenarios for Bean (*Phaseolous vulgaris* L.) production via optimization of water superabsorbent, humic acid and cattle manure application rate

Jahan^{1*}, M., Amiri², M.B. & Noorbakhsh³, F.

1, 2 and 3. Associate Professor of Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad; Assistant Professor of Gonabad University; and Ph.D. Student of Agroecology of Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively

Received: 7 September 2015

Accepted: 6 February 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.48451

Introduction

Maintenance of soil fertility as a permanent bed for continuous production of agricultural products is one of the most important issues affecting the sustainability of food production. In order to achieve healthy food production, application of ecological inputs such as cattle manure and organic acids are inevitable. Cattle manure is an excellent fertilizer containing nitrogen, phosphorus, potassium and other nutrients. It also adds organic matter to the soil which may improve soil structure, aeration, soil moisture-holding capacity, and water infiltration. Humic substances are a mixture of different organic compounds that extract from various sources such as soil, humus, peat, oxidized lignite and coal. They are different in molecular size and chemical structure. A little amounts of humic acid increase soil fertility by improving the physical, chemical and biological characteristics of soil. Water super absorbents are water absorbing polymers (they may contain over 99% water). They have been defined as polymeric materials which exhibit the ability of swelling in water and retaining a significant fraction (> 20%) of water within their structure, without dissolving in water content. The applications of hydrogels are grown extensively. These materials have 100% natural structures and do not have any harm for the environment. Development of using super absorbent hydrogels to reduce crises such as soil erosion, frequent droughts or providing food security requires knowledge of their behaviors and performances in the soil. To determine the optimal irrigation water and fertilizer, the use of mathematical models is inevitable. One of the most common methods used to optimize these factors is the central composite design. A central composite design is an experimental design, useful in response surface methodology, for building a second order (quadratic) model for the response variable without needing to use a complete three-level factorial experiment. Considering the importance of bean as the main crop in Fabaceae family and also the lack of comprehensive information in the field of simultaneous optimization of water super absorbent, humic acid and cattle manure, in this study, different economic and environmental scenarios for bean (*Phaseolous vulgaris* L.) production via optimization of water super absorbent, humic acid and cattle manure application was evaluated.

Materials & Methods

In order to estimate optimized application rates of water superabsorbent, humic acid and cattle manure in cultivation of bean, an experiment as Box Benken design using Response Surface Methodology, was conducted at Research Farm of Ferdowsi University of Mashhad, during 2013-14 growing season. The experimental treatments were designed considering of the high and the low levels of water superabsorbent (80 and 160 kg.ha⁻¹), humic acid (4 and 8 kg.ha⁻¹) and cattle manure (0 and 30 t.ha⁻¹) using MINITAB Ver. 17 statistical software, as the central point in every treatment replicated 3 times, so 15 treatment combinations were provided totally.

*Corresponding Author: jahan@um.ac.ir

Results & Discussion

The result showed that the highest seed yield obtained in the middle level of humic acid (6 kg.ha^{-1}), so that application of 6 kg.ha^{-1} humic acid increased seed yield 15 and 11% compared to the levels of 4 and 8 kg.ha^{-1} , respectively. The moderate increasing of cattle manure amounts led to an increase in dry matter yield, so that by increasing the amounts of cattle manure from 0 to 15 t.ha^{-1} , dry matter yield increased by 36%, but more increasing the amounts of cattle manure from 15 to 30 t.ha^{-1} led to a decrease in dry matter yield by 4%. By increasing the amounts of superabsorbent, nitrogen losses decreased, so that the application of 120 kg.ha^{-1} superabsorbent decreased nitrogen losses 17% compared to the level of 80 kg.ha^{-1} . Nitrogen use efficiency in the 6 kg.ha^{-1} level of humic acid was 16 and 13% more than the levels of 4 and 8 kg.ha^{-1} , respectively. It seems that application of humic acid increased seed yield by improving soil physical properties. Amiri (2015) reported that humic acid and folic acid increased seed yield of *Echium amoenum* by 32 and 22% compared to control, respectively. The highest and the lowest seed yield of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) obtained in treatments of 80 kg.ha^{-1} water super absorbent + humic acid and Non-applicaion of water super absorbent and humic acid, respectively. El-Baz et al., (2012) evaluated effect of humic acid on yield and yield components of soybean (*Glycine max* L.) and reported that the highest seed yield obtained in level of 1000 ppm humic acid.

Conclusions

In economic scenario, using $143.83 \text{ kg.ha}^{-1}$ superabsorbent, 6.14 kg.ha^{-1} humic acid and 22.12 t.ha^{-1} cattle manure, resulted in 1613 kg.ha^{-1} seed yield. The nitrogen losses in environmental scenario decreased by 95% compared to economic scenario. Eco-environmental scenario attended to different aspects of resource optimization, therefore it seems using the optimized amounts of resources in this scenario (131.71 and 6.02 kg.ha^{-1} superabsorbent and humic acid and 0.30 t.ha^{-1} cattle manure, respectively) are the best levels of ecological inputs in this research.

Key words: Box Benken, Ecological approach, Ecological input, Health of product, Nitrogen losses

بررسی الگوی بیان ژن‌های *P5CS* و *CBF* تحت تنش یخ‌زدگی و اثر خوسرمایی بر تغییرات میزان پرولین آزاد در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.)

روح الله قاسمی^{۱*}، عبدالرضا باقری^۲، نسرین مشتاقی^۳ و فرهاد شکوهی^۳

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
۲- اعضای هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی و گروه بقولات پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۴

چکیده

سازگاری گیاهان به تنش یخ‌زدگی از طریق تنظیم فعالیت ژن‌ها و متابولیسم سلولی انجام می‌شود. در این پژوهش، تغییرات بیان ژن‌های *P5CS* و *CBF(DREB1)* در شرایط دمایی معمولی (۲۳ درجه سانتی‌گراد)، خوسرمایی (۱۰ درجه سانتی‌گراد) و یخ‌زدگی (۱۰- درجه سانتی‌گراد) در دو ژنوتیپ نخود زراعی مقاوم (MCC426) و حساس (MCC505) به سرما مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که بیان این ژن‌ها در ژنوتیپ مقاوم در مقایسه با ژنوتیپ حساس به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). همچنین اثر متقابل ژنوتیپ و اندام نمونه‌گیری در شرایط کنترل فقط در میزان بیان ژن *P5CS* تفاوت معنی‌داری را نشان داد. علاوه‌بر این مشاهده شد که اثر متقابل ژنوتیپ و تیمار خوسرمایی در مورد ژن *CBF* در هر دو ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری داشت، ولی در مورد ژن *P5CS* فقط در ژنوتیپ MCC426 این روند مشاهده شد. از طرفی بررسی تغییرات میزان پرولین آزاد به‌عنوان یکی از سازوکارهای حفاظت سلولی در مرحله خوسرمایی نشان داد که میزان پرولین ژنوتیپ MCC426 در پاسخ به تیمار خوسرمایی نسبت به ژنوتیپ دیگر افزایش بیشتری داشته است؛ در صورتی‌که این افزایش در ژنوتیپ MCC505 طی مراحل اولیه خوسرمایی رخ داده و با گذشت زمان، میزان پرولین کاهش یافته است. براساس یافته‌های این تحقیق می‌توان بیان کرد که یکی از دلایل اصلی مقاومت ژنوتیپ MCC426 به دماهای پایین، بیان زیاد ژن‌های مذکور در شرایط تنش سرمایی بوده و می‌توان از آن‌ها برای القای مقاومت در گیاهان حساس به سرما استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، تنش یخ‌زدگی، پرولین، نخود زراعی

مقدمه

سازوکارهای متعدد و از طریق فرایندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و همچنین سلولی مولکولی به تنش یخ‌زدگی پاسخ داده و خود را با شرایط محیطی منطبق کرده و بنابراین مقادیر مختلفی از تحمل را نشان می‌دهند. این اختلاف در بین گیاهان از پاسخ وسیع در سطوح دیواره و غشای سلولی، اندامک‌ها، ریزمولکول‌ها و درشت مولکول‌ها منشأ می‌گیرد و در نهایت بیان متفاوت ژن‌های مرتبط را به‌همراه خواهد داشت (Filippi *et al.*, 2007). یکی از فرایندهای مهم در مقاومت گیاهان به تنش سرما به‌عنوان خوگرفتن^۲ شناخته می‌شود. در این فرایند، سازوکارهای درونی گیاه سبب افزایش مقاومت به تنش یخ‌زدگی پس از قرارگیری در دماهای نزدیک صفر می‌شود (Gusta *et al.*, 2007). هرچند برخی از ژن‌ها و تنظیم‌کننده‌های دخیل در فرایند سازگاری توسط محققان شناخته شده است، اما هنوز ارتباط اساسی بین تغییرات رخ داده و مقاومت

تنش سرما و یخ‌زدگی از جمله مهم‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که رشد و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این تنش‌ها باعث از بین رفتن بسیاری از پروتئین‌های سلولی و به تبع آن اختلال در سوخت‌وساز سلول و تغییرات در پایداری و نفوذپذیری غشاء شده که اثر آن در درجه اول در غشاء سلول مشاهده می‌شود (Harding *et al.*, 1999). علاوه براین، تنش سرما باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپر اکسید (O_2^-) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) در کلروپلاست و میتوکندری شده که پراکسیداسیون لیپید، دنا توره شدن پروتئین و جهش در DNA را سبب می‌شوند که این امر به مختل شدن متابولیسم طبیعی گیاه و در نهایت مرگ سلول‌ها منجر می‌شود (Esfandiari *et al.*, 2007). گیاهان با

*نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۵۹۰۴۸۷۹۹
rohollah.ghasemi@modares.ac.ir

^۲ Acclimation

القاء شده در گیاهان به‌خوبی شناخته نشده است (Thomashow, 1999). تنش دماهای پایین باعث القای بیان و یا ممانعت از بیان ژن‌های خاصی می‌شود، لذا شناسایی ژن‌های مهم در لاین‌های متحمل و حساس به کمک ارزیابی تغییرات بیان آن‌ها در شرایط اعمال تنش نسبت به حالت بدون تنش، برای اجرای برنامه‌های افزایش مقاومت گیاهان به تنش یخ‌زدگی می‌تواند یکی از راه‌های مناسب باشد.

از جمله پروتئین‌هایی که در هنگام مواجهه گیاه با سرما به ایفای نقش در سازگاری و تحمل سرما در گیاه می‌پردازد، پروتئین‌های $P5CS^1$ و فاکتور رونویسی $DREB^2(CBF)^3$ می‌باشند. یکی از واکنش‌هایی که گیاهان در مواجهه با این گونه تنش‌ها از خود نشان می‌دهد، واکنش‌های متابولیکی است و یکی از بهترین آن‌ها تجمع اسمولیت‌های آلی می‌باشد. از جمله این اسمولیت‌های آلی می‌توان پرولین را نام برد. پرولین، غشاء ها و پروتئین‌ها را در برابر آثار مختلف غلظت‌های بالای یون های معدنی و دماهای بالا و پایین محافظت می‌کند و به‌عنوان یک پاک‌کننده رادیکال‌های هیدروکسیل عمل می‌نماید (Rayapati & Stewart, 1991). تنش اسمزی بیوسنتز پرولین را افزایش می‌دهد و این افزایش به‌واسطه تحریک‌کردن یا فعال‌کردن آنزیم‌هایی است که در مسیر بیوسنتز پرولین دخالت دارند. در یکی از این دو مسیر که اغلب در شرایط تنش به‌ویژه تنش سرما اتفاق می‌افتد، L-گلوتامیک اسید به گلوتامیک γ -سمی آلدوئید تبدیل شده و پس از تولید دلتا-1-پرولین-5-کربوکسیلات، در نهایت به L-پرولین تبدیل می‌شود (Delauney et al., 1993). اولین آنزیمی که در مسیر بیوسنتز پرولین نقش کلیدی دارد، آنزیم $P5CS$ می‌باشد که در هنگام تنش سرما و یخبندان در گیاهان، تولید آن افزایش می‌یابد (Delauney et al., 1993). پروتئین $DREB$ یکی از عوامل نسخه‌برداری در گیاهان است که در بسیاری از گیاهان نقش کلیدی را در تحمل به تنش‌های غیرزیستی از جمله یخ‌زدگی ایفاء می‌کند. این پروتئین با داشتن توالی حفاظت‌شده یخ‌زدگی خاصی از DNA در بالادست ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش سرما متصل و باعث بیان آن‌ها می‌شود (Agarwal et al., 2006).

از این دو ژن برای افزایش مقاومت به سرما در گیاهان حساس استفاده شده است. در پژوهشی با انتقال ژن $P5CS$ با کمک *Agrobacterium tumefaciens* به *Eucalyptus*

saligna در شرایط این‌ویتر، میزان تولید پرولین چهار برابر بیشتر از نمونه‌های شاهد شد (Dibax et al., 2010). در مطالعه‌ای دیگر در تنباکوی تراریخته، با بیش‌بیان ژن $P5CS$ ، ۱۰ تا ۱۸ برابر پرولین بیشتری تولید شد و این گیاهان تراریخته تحمل به یخ‌زدگی بالایی را از خود نشان دادند (Konstantinova et al., 2002). در مورد ژن CBF نیز شرایط به این‌گونه است. بیش‌بیان ژن‌های CBF آرابیدوپسیس در *B. napus* تراریخته، بیان ژن‌های هدف CBF را افزایش داده و مقاومت به یخ‌زدگی را هم در گیاهان سازش‌یافته و هم سازش‌نیافته به سرما افزایش داد (Jaglo et al., 2001). همچنین بیان ژن $CBF1$ آرابیدوپسیس در گوجه‌فرنگی تحمل بالایی را به سرما نشان داده است (Hsieh et al., 2002). در کل در مورد ژن CBF می‌توان عنوان کرد که ژن‌های ارتولوگ $DREB1/CBF$ در بسیاری از گیاهان زراعی مثل کلم بروکلی، گوجه‌فرنگی، یونجه، ذرت، برنج، جو، آتریپلکس، کلزا، اوکالیپتوس، فستوکا و گندم شناسایی شده که نشان‌دهنده حضور گسترده سیستم تنظیمی $DREB1/CBF$ در قلمروی گیاهی بوده و انتظار می‌رود که فناوری $DREB$ با کنترل بیان این سیستم تنظیمی تحمل علیه تنش‌ها مخصوصاً شرایط یخ‌زدگی را در گیاهان زراعی بهبود بخشد.

با توجه به این که بررسی بیان ژن‌ها تحت تنش یخ‌زدگی می‌تواند به‌طور سودمندی توجیه‌کننده‌ی تغییرات متابولیکی گیاه در جریان سازگاری به دماهای پایین باشد و محققان را در روشن‌شدن پاسخ‌های مختلف گیاهان هدایت کند، لذا در این تحقیق میزان بیان ژن‌های $P5CS$ و $CBF(DREB1)$ که در مواجهه بسیاری از گیاهان با تنش سرما و یخ‌زدگی نقش مهمی بازی می‌کنند، در نخود زراعی در دو ژنوتیپ مقاوم و حساس به سرما مورد بررسی قرار گرفتند و از تکنیک Real time PCR برای بررسی میزان بیان ژن‌های فوق تحت شرایط تنش و بدون تنش استفاده شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول: بررسی اثرات خوسرمایی و تنش یخ‌زدگی بر بیان ژن‌های $P5CS$ و CBF

در این پژوهش دو ژنوتیپ مختلف نخود زراعی شامل MCC426 متحمل به سرما (Nezami & Bagheri, 2001) و MCC505 حساس به سرما (Singh et al., 1995) انتخاب و بذر آن‌ها از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد دریافت شد. در ابتدا بذرها با هیپوکلریت سدیم تجاری ۱۰ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی شده و پس از شستشو با آب مقطر، بر روی کاغذ صافی در ظروف پتری با

¹ $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylatesynthetase

² Dehydration responsive element binding

³ C-repeat binding factor

استخراج RNA و سنتز cDNA

از نمونه‌های فریز شده، کل RNA با استفاده از کیت استخراج RNA ستونی شرکت دنازیست، استخراج شده و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت تعیین غلظت و کیفیت نمونه‌های استخراج شده، نانودراپ نمونه‌ها با نسبت های ۲۶۰/۲۳۰ و ۲۶۰/۲۸۰ انجام شده و مقدار کل RNA بر حسب میکروگرم در میکرولیتر محاسبه گردید. غلظت داده شده توسط دستگاه، برای ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. همچنین جهت تعیین کیفیت RNA نیز مقدار پنج میکروگرم از هر نمونه (براساس نتایج نانودراپ محاسبه شدند) روی ژل ۱/۵ درصد آگارز، الکتروفورز شد تا نسبت به کیفیت بالای آن اطمینان حاصل شود. پس از اطمینان از کیفیت RNA و مشاهده باندهای مربوط به RNA ریبوزومی ۱۸S و ۲۸S، به منظور حصول RNA خالص، RNAهای استخراج شده با استفاده از آنزیم DNase I شرکت Fermentas (USA) (2001) طبق دستورالعمل شرکت سازنده مورد تیمار قرار گرفتند. بعد از همسان سازی غلظت‌های مختلف RNA، به منظور سنتز cDNA از کیت شرکت ویوانتیس و طبق دستور العمل شرکت مذکور بهره گرفته شد.

طراحی آغازگر

برای طراحی آغازگر مناسب از توالی mRNAهای ژن‌های P5CS و CBF مربوط به نخود که در پایگاه NCBI وجود داشت، استفاده شد و با نرم افزار Primer Premier 5 طراحی انجام گرفت. ژن خانگی *Elongation factor* به عنوان ژن کنترل داخلی جهت نرمال سازی سنجش بیان ژن مورد استفاده قرار گرفت (Dinari et al., 2013). توالی آغازگرهای ژن‌های موردنظر و همچنین توالی ژن خانه دار در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده

Table 1. Primers used in this study

اندازه محصول	توالی آغازگر	آغازگر
Product size	Primer sequence	Primer
168bp	TATCAGCCTTGTTGGCGTTG	P5CS-F
	CCACCCTACACTGTCTCCGA	P5CS-R
131 bp	AATGACGCTCGTGTAGATGC	CBF-F
	CAAGACAATGAAGGCTGGG	CBF-R
101bp	CTCCAAGGATGACCCTGCTAA	Elongation factor-F
	CGAGGACTGGGGCATAACC	Elongation factor-R

طراحی آغازگرها، مراحل سنتز و خلوص cDNAها و از مناسب بودن برنامه PCR اطمینان حاصل شد. سپس برای انجام Real time PCR، براساس شرایط بهینه شده، حجم واکنش زنجیره

رطوبت لازم قرار داده شدند. ظروف پتری در شرایط بدون نور و دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از جوانه زنی به گلدان منتقل شدند. گلدان‌ها در اتاقک رشد و با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از دو هفته که رشد در شرایط نرمال، گیاهچه‌ها به دو قسمت تقسیم شده و نیمی در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و شرایط ذکر شده نگهداری و نیمی دیگر به دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد جهت اعمال تیمار خوسرمایی منتقل شدند. بر طبق مطالعات انجام شده، دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد برای راه اندازی بهتر مسیرهای سازگاری و آمادگی برای مقابله با تنش سرما مناسب می‌باشد و این مطلب در مورد برخی از ژنوتیپ‌های نخود گزارش شده است (Nayyar et al., 2005). بعد از ۱۰ روز، گیاهچه‌ها از تیمار دمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد و همچنین از شرایط نرمال ۲۳ درجه سانتی‌گراد به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. برای جلوگیری از یخ زدگی ناگهانی، دمای فریزر تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت به تدریج کاهش یافت و گیاهان به مدت ۱۵ دقیقه در معرض این دما و در شرایط تاریکی قرار گرفتند و سپس از قسمت‌های میانی گیاهان، نمونه گیری برگ مرکب و ساقه انجام شد. کاهش تدریجی دما شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (Murry et al., 1988). نمونه گیری از گیاهان شاهد و برای هر تیمار از گیاهان در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد در همان لحظه نمونه گیری از گیاهان تحت تنش، انجام شد. نمونه‌ها در ازت مایع منجمد و جهت نگهداری به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

شرایط PCR برای تکثیر قطعه و آزمون آغازگرها

در ابتدا از cDNAهای سنتز شده از نمونه‌های RNA، برای بهینه سازی واکنش PCR استفاده شد و از درست بودن

سانتریفیوژ گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از محلول شفاف بالایی به میکروتیوب جدید انتقال یافت و ۲۰۰ میکرولیتر معرف ناین هیدرین و ۲۰۰ میکرولیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه شد و به مدت نیم ساعت در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس نمونه‌ها پس از سرد شدن در طول موج ۵۲۰ نانومتر اسپکت شدند. برای ساخت ۳۰ میلی‌لیتر محلول ناین‌هیدرین، ۷۵۰ میلی‌گرم ناین‌هیدرین، ۷/۵۶ گرم اسید فسفریک جامد که با آب مقطر به حجم ۱۲ میلی‌لیتر رسانده شده و ۱۸ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال با هم مخلوط شدند (Bates, 1973).

تهیه منحنی استاندارد به منظور محاسبه میزان تجمع پرولین در کنار نمونه‌ها، یک سری نمونه‌های استاندارد با میزان مشخص پرولین آماده شده و دقیقاً تمام مراحل بالا برای نمونه‌ها اعمال شد. برای ساخت نمونه‌های استاندارد ابتدا ۲۵ میلی‌گرم پرولین در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول آماده شده برداشته شده و به حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر رسانده شدند (جدول ۲). در ادامه سایر مراحل (همانند نمونه‌های عصاره‌های گیاهی) بر روی آن‌ها اعمال شد. میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شده و با استفاده از غلظت معلوم پرولین در محلول‌های استاندارد و اعداد به دست آمده نهایی، خط رگرسیون ترسیم گشت (شکل ۱). بعد از مشخص شدن معادله نهایی خط، با استفاده از این منحنی استاندارد و نسبت رقیق‌سازی مواد، غلظت پرولین در نمونه‌های به دست آمده از زمان‌های مختلف نمونه‌برداری برای هر دو ژنوتیپ مورد آزمایش تعیین شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول: بررسی الگوی بیان ژن‌های *P5CS* و *CBF* در دو ژنوتیپ نخود زراعی تحت تنش یخ‌زدگی
شکل ۲ باندهای حاصل از الکتروفورز RNA استخراج شده را نشان می‌دهد. در این تصویر، باندهای RNA ریبوزومی ۲۸S و ۱۸S به وضوح قابل تشخیص است که نشان از کیفیت خوب RNA استخراج شده دارد.

بررسی اثر ژنوتیپ در میزان بیان ژن‌های *P5CS* و *CBF*
همان‌گونه که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، بین میزان بیان نسبی ژن‌های *P5CS* و *CBF* در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به طوری که در مورد هر دو ژن، میزان نسبی بیان آن‌ها در ژنوتیپ MCC426 به طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ MCC505 بود و از آنجایی

ای پلیمرز ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد که این حجم حاوی دو میکرولیتر از cDNA، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۰/۴ میکرومولار از هر آغازگر، ۲/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، غلظت نهایی یک برابر از بافر PCR و یک واحد Taq-DNA پلی‌مرز بود. سپس حجم نهایی با استفاده از آب مقطر استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش Real time PCR در ۴۰ چرخه و حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با شرایط زیر در دستگاه BioRAD صورت گرفت: ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشت اولیه) و ۴۰ تکرار با چرخه‌های ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشت ثانویه)، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد (دمای T_m آغازگر) و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (مرحله بسط). میزان بیان ژن‌ها با روش Efficiency adjusted $\Delta\Delta C_t$ (Pfaffl, 2001) محاسبه گردید. در این روش همه داده‌ها با ژن خانگی *Elongation factor* به عنوان کنترل داخلی نرمال شده و سپس میزان تغییرات بیان ژن‌ها نسبت به شاهد سنجیده شد.

محاسبه میزان بازدهی آغازگرها

جهت اندازه‌گیری بازدهی هر آغازگر، رقت‌های ۱۰ برابر از cDNA تهیه گردید. پس از به دست آمدن C_t در هر رقت و رسم نمودار C_t بر مبنای لگاریتم رقت مورد نظر شیب خط مشخص شده و با استفاده از فرمول $(1 - (10^{-1/شیب}))$ میزان بازدهی مربوط به هر آغازگر محاسبه گردید (Gentle et al., 2001).

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از خوسرمایی (در دو سطح شامل خوسرمایی و عدم خوسرمایی) و دو ژنوتیپ نخود (MCC426 و MCC505) و همچنین نمونه‌گیری از برگ‌ها و ساقه‌ها به طور جداگانه برای مقایسه میزان بیان ژن‌های مذکور در این دو اندام و در دو زمان (قبل و بعد از تنش) انجام شد.

آزمایش دوم: بررسی تغییرات میزان پرولین آزاد در مرحله خوسرمایی

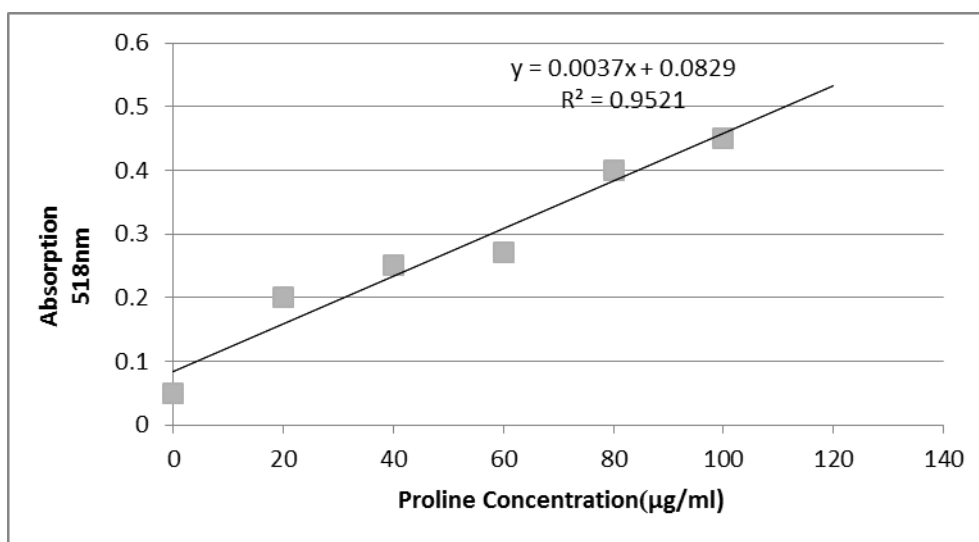
در آزمایشی جداگانه بعد از انتقال گیاهچه‌ها به شرایط خوسرمایی، میزان پرولین آن‌ها با گذشت ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت از زمان قرارگیری در شرایط خوسرمایی همراه با شاهد اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میلی‌گرم برگ درون هاون با استفاده از ازن مایع پودر شده و در داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتر ریخته، ۴۰۰ میکرولیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد به نمونه‌ها اضافه شد، سپس پنج دقیقه در دور ۳۰۰۰

که این دو ژن از مهم‌ترین عوامل مقاومت گیاهان به تنش‌ها
به‌خصوص تنش سرما و یخ‌زدگی به حساب می‌آیند، این نتیجه
می‌تواند دلیلی بر این موضوع باشد که ژنوتیپ MCC426
متحمل به سرما و ژنوتیپ MCC505 حساس به سرما
می‌باشد.

جدول ۲- تهیه محلول‌های پرولین استاندارد برای آنالیز اسپکتروفتومتری

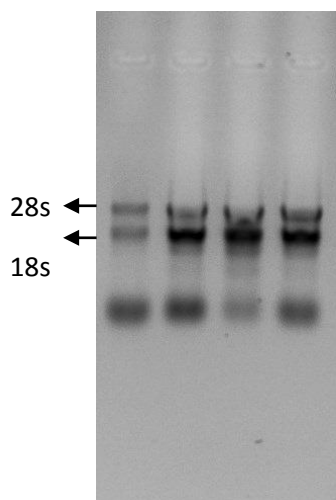
Table 2. Preparation of proline standard solutions for a spectrophotometric analysis

محل استاندارد نهایی (میکروگرم در میلی‌لیتر) The final standard solution(μg/ml)	حجم اضافه‌شده تا 1000 میکرولیتر Volume added to 1000 μl	حجم برداشته‌شده از محلول ذخیره (میکرولیتر) Volume removed from the solution(μl)	شماره لوله آزمایش Number of test tubes
0	1000	0	1
5	950	50	2
10	900	100	3
20	800	200	4
40	600	400	5
80	200	800	6
100	0	1000	7



شکل ۱- منحنی استاندارد پرولین

Fig. 1. Proline standard curve

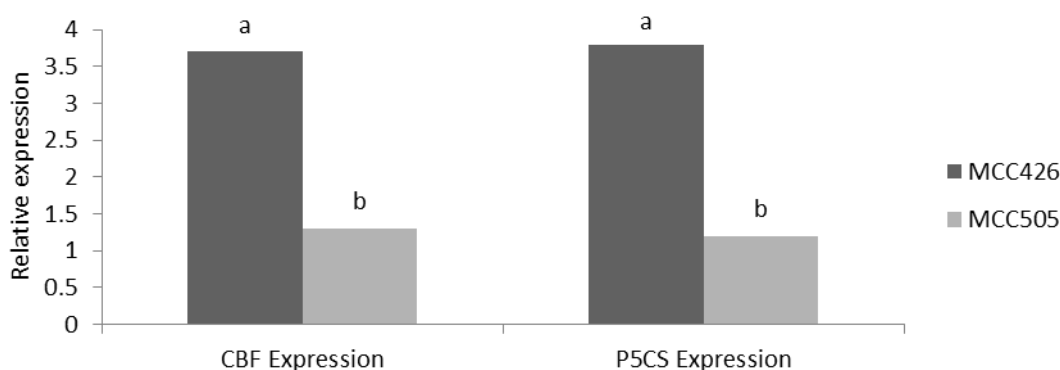


شکل ۲- باندهای RNA ریبوزومی در RNA استخراج‌شده

Fig. 2. Bands of ribosomal RNA in the extracted RNA

آزمایشات انجام شده در شرایط مزرعه جزو ارقام بسیار متحمل به سرما درجه بندی شده است (Nezami & Bagheri, 2002).

در پژوهش‌های گذشته ژنوتیپ MCC505 به عنوان ژنوتیپ حساس به سرما در نواحی مدیترانه‌ای توسط ایکاردا معرفی شده است (Singh *et al.*, 1995) و ژنوتیپ MCC426 حاصل به‌گزینی از توده بومی قزوین می‌باشد که با



شکل ۳- بیان نسبی ژن‌های *P5CS* و *CBF* در ژنوتیپ‌های MCC426 و MCC505 بعد از تیمار یخ‌زدگی (ستون‌های دارای حرف یا حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند؛ $P < 0.05$)

Fig. 3. Relative expression of *P5CS* and *CBF* genes in MCC426 and MCC505 genotypes after freezing treatments (columns with different letter or letters show statistically significant difference; $P < 0.05$)

پایین افزایش می‌یابد (Gilmour *et al.*, 2001). اما بیان ژن *P5CS* در ژنوتیپ MCC426 نسبت به ژنوتیپ دیگر بیشتر بود (شکل ۳). از آنجایی که ژن *P5CS* یک ژن پُراهمیت در تنش سرما و یخ‌زدگی محسوب می‌شود، افزایش بیان این ژن در ژنوتیپ متحمل که یک ژنوتیپ مقاوم به سرما است دور از انتظار نبود. احتمالاً این نتیجه مؤید این مطلب است که ژنوتیپ MCC426 در شرایط نرمال سطح بیان ژن *P5CS* را برای مقابله با تنش سرما و یخ‌زدگی بالا نگه می‌دارد.

مقایسه میزان بیان ژن‌های *CBF* و *P5CS* در دو ژنوتیپ مورد نظر در شرایط خوسرمایی و عدم خوسرمایی

میزان نسبی بیان ژن‌ها از گیاهانی که در معرض تیمار خوسرمایی و عدم خوسرمایی قرار داشته و سپس تحت تیمار یخ‌زدگی قرار گرفتند، اندازه‌گیری و دو ژنوتیپ با یکدیگر مقایسه شدند. همان‌گونه که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود، میزان نسبی بیان ژن *CBF* در دو حالت خوسرمایی و عدم خوسرمایی اختلاف معنی‌داری با هم نشان دادند، اما در مورد ژن *P5CS* ملاحظه شد که در ژنوتیپ MCC426 اختلاف معنی‌داری بین گیاهان خویافته و خونیاخته وجود دارد، ولی در ژنوتیپ MCC505 اختلاف معنی‌دار نبود.

همچنین مشخص شده است که افزایش بیان ژن‌های *P5CS* و *CBF* در بیشتر مواقع همراه هم اتفاق می‌افتند. مشخص شده که بیش‌بیان *CBF3/DREB1A* در آراییدوپسیس علاوه بر افزایش تحمل به یخ‌زدگی، به‌طور قابل توجهی تغییرات بیوشیمیایی دیگری که وابسته به سازگاری به سرما می‌باشد را ایجاد کرده که شامل افزایش سطح پرولین و قندهای محلول شامل ساکارز، رافینوز، گلوکز و فروکتوز می‌شود. همچنین بیان ژن *CBF3* سطح آنزیم *P5CS* را افزایش می‌دهد که چنین نتیجه‌گیری شد که بخشی از افزایش سطح پرولین در نتیجه افزایش سطح همین آنزیم می‌باشد (Gilmour *et al.*, 2000).

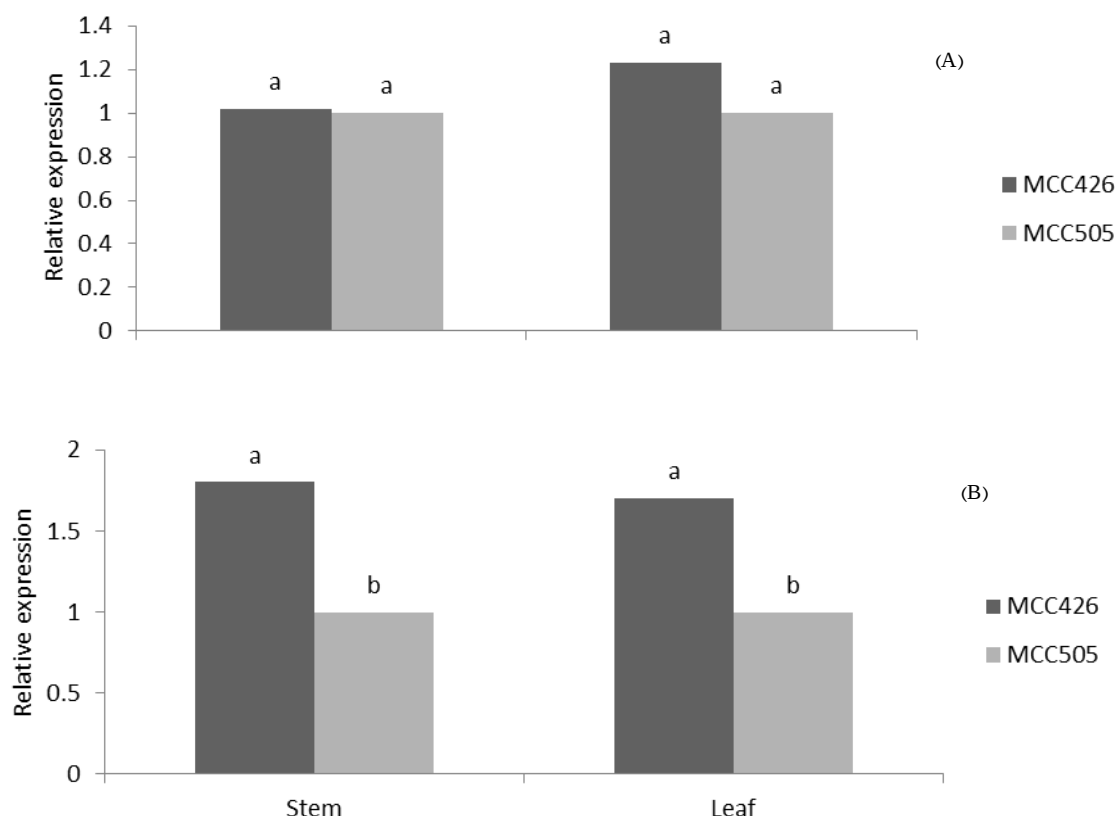
بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و اندام نمونه‌گیری شده در میزان بیان ژن‌های *CBF* و *P5CS* در شرایط کنترل

در بیان ژن‌های *CBF* در هر دو ژنوتیپ و بین اندام‌های برگ و ساقه گیاه در شرایط کنترل، اختلاف معنی‌داری ملاحظه نشد (شکل ۴). این مطلب می‌تواند این موضوع را ثابت کند که بیان این ژن تنها بعد از القای تنش سرما اتفاق افتاده و در غیرشرایط تنش بیان آن ناچیز می‌باشد. مطالعات گذشته نیز نشان داد القای این ژن توسط تنش سرما انجام گرفته و میزان بیان آن در حدود ۱۵ دقیقه بعد از انتقال گیاهان به دماهای

اثر متقابل ژنوتیپ، تیمار خوسرمایی و اندام نمونه‌گیری در میزان بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه

در بررسی اثر متقابل ژنوتیپ، تیمار خوسرمایی و اندام نمونه‌گیری در میزان بیان ژن *CBF* مشاهده شد که در ژنوتیپ MCC426 و تیمار خوسرمایی، بین اندام‌های ساقه و برگ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. ولی در همین ژنوتیپ و عدم خوسرمایی، بین ساقه و برگ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در ژنوتیپ MCC505 در تیمار خوسرمایی بین ساقه و برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی در عدم خوسرمایی بین بیان ژن *CBF* در ساقه و برگ اختلاف معنی‌داری دیده شد. در مورد بیان ژن *P5CS* در دو ژنوتیپ و تیمار خوسرمایی و عدم خوسرمایی بین اندام نمونه‌گیری ساقه و برگ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

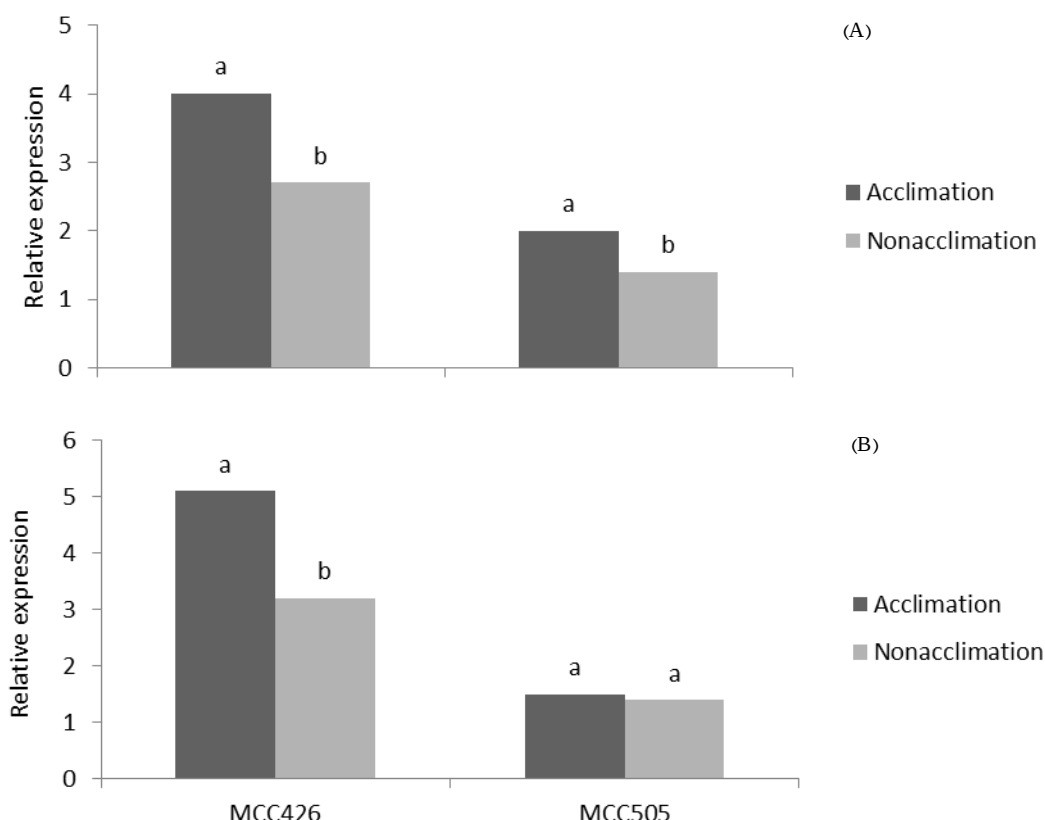
نتایج این آزمایش در مورد ژن *CBF*، توسط نتایج تحقیقات پیشین اثبات می‌شود. Fowler & Thomashow (2002) نشان دادند که قرارگیری در شرایط خوسرمایی چندین مسیر تنظیمی مختلف را به‌منظور فعال کردن مسیر پاسخ به سرمای *CBF* فعال می‌کند و میزان بیان این ژن بعد از چند دقیقه تحت تنش سرما بودن افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند. همچنین براساس نتایج پژوهش‌های دیگری مشخص شده است که *DREB1/CBF* فعال‌سازی اجزای چندگانه پاسخ خوسرمایی را تکمیل می‌کند. بنابراین پروتئین‌های *DREB1/CBF* بدون احتیاج به تغییرات بعد از ترجمه بر بهبود تحمل به تنش موثرند (Esfandiari et al., 2007).



شکل ۴- بیان نسبی ژن‌های *CBF* (A) و *P5CS* (B) در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در شرایط کنترل

(ستون‌های دارای حرف یا حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند؛ $P < 0.05$)

Fig. 4. Relative gene expression of *CBF* (A) and *P5CS* (B) in the genotypes tested under control conditions
(columns with different letter or letters show statistically significant difference; $P < 0.05$)



شکل ۵- مقایسه بیان نسبی ژن‌های *CBF* (A) و *P5CS* (B) در دو ژنوتیپ مورد آزمایش در شرایط تیمار خوسرمایی و عدم خوسرمایی (ستون‌های دارای حرف یا حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند؛ $P < 0.05$)

Fig. 5. Comparison of the relative gene expression of *CBF* (A) and *P5CS* (B) in the genotypes tested under acclimation and nonacclimation treatments
(columns with different letter or letters show statistically significant difference; $P < 0.05$)

جدول ۳- مقایسه اثر متقابل سه‌جانبه ژنوتیپ، تیمار خوسرمایی و اندام نمونه‌گیری در بیان نسبی ژن *P5CS* و *CBF*

Table 3. Comparison of 3-way interaction between genotype, acclimation and sampling organ in the relative expression of *CBF* and *P5CS* genes

MCC505		MCC426		ژنوتیپ		Genotype		تیمار خوسرمایی Acclimation treatment
عدم خوسرمایی Nonacclimation	خوسرمایی Acclimation	عدم خوسرمایی Nonacclimation	خوسرمایی Acclimation	برگ	ساقه	برگ	ساقه	
برگ Leaf	ساقه Stem	برگ Leaf	ساقه Stem	برگ Leaf	ساقه Stem	برگ Leaf	ساقه Stem	اندام Organ
1.48 a	1.3 b	1.9 a	1.85 a	2.95 a	2.65 b	4.15 a	4.05 a	<i>CBF</i>
1.38 a	1.42 a	1.5 a	1.54 a	2.43 a	2.29 a	5.29 a	5.13 a	<i>P5CS</i>

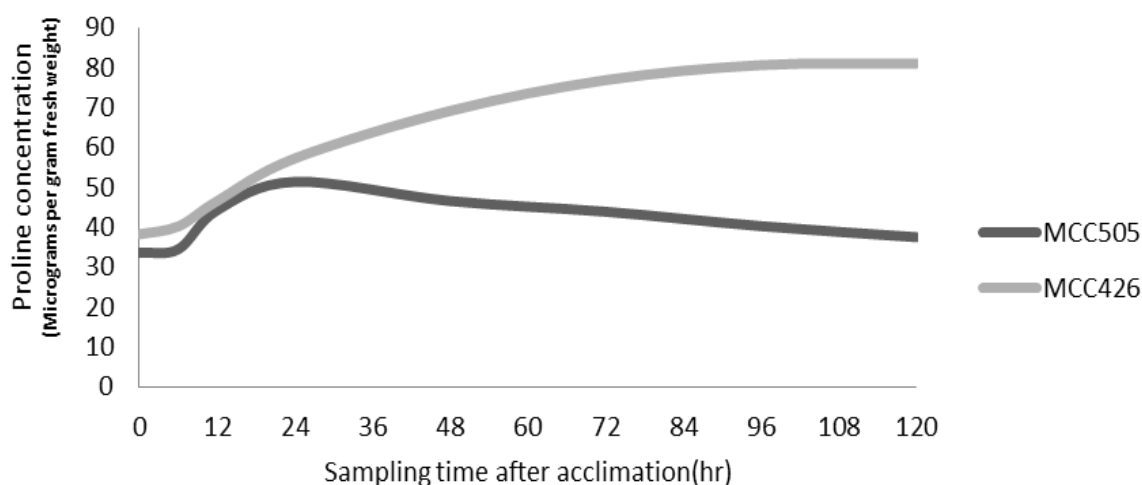
(حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهند؛ $P < 0.05$)

(different letters indicating statistically significant difference; $P < 0.05$)

میزان پرولین در دو ژنوتیپ مورد مطالعه در زمان‌های مختلف ملاحظه گردید که اثرات متقابل دو جانبه (ژنوتیپ × زمان نمونه برداری) معنی‌دار بود که نتیجه می‌شود مقدار پرولین برگ‌ها در هر دو ژنوتیپ و در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری متفاوت است (شکل ۶).

آزمایش دوم: نتایج بررسی تغییرات میزان پرولین آزاد در مرحله خوسرمایی

در این آزمایش بین ژنوتیپ‌ها و زمان‌های نمونه‌برداری در طول آزمایش اختلاف بسیار معنی‌داری از لحاظ میزان پرولین برگ گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. همچنین با توجه به نتایج تجزیه واریانس مربوط به تغییرات



شکل ۶ - روند تغییرات میزان پرولین برگ های گیاهچه های حاصل از ژنوتیپ MCC426 و MCC505 در زمان های مختلف نمونه برداری در طی خوسرمایی

Fig. 6. Trend of proline content in seedling leaves of MCC426 and MCC505 at different sampling times during acclimation process

که افزایش پرولین در سلول های سیب زمینی آن ها را در برابر تنش سرما محافظت می کند. همچنین در گیاهانی مثل سیب زمینی، جو و گندم مشخص شده است که میزان پرولین آزاد در گیاهان مقاوم به دماهای پایین افزایش می یابد (Dorffling *et al.*, 2008). بنابراین با توجه به نتایج داده های این آزمایش و پژوهش های گذشته به نظر می رسد که بتوان از پرولین به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی برای تمایز ارقام حساس و متحمل به سرما استفاده کرد. اگر چه لازم است که در این زمینه از ژنوتیپ های متحمل و حساس دیگری برای تأیید نتایج به دست آمده در این تحقیق استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای دکتر احمد نظامی استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر همکاری صمیمانه در طول اجرای این تحقیق سپاسگزاری می گردد.

همچنین مشاهده شد که میزان پرولین در ژنوتیپ MCC426 در پاسخ به تیمار خوسرمایی در مقایسه با ژنوتیپ MCC505 سریع تر افزایش یافت. در مقابل در ژنوتیپ MCC505 در طی مراحل اولیه خوسرمایی اندکی افزایش پرولین مشاهده شد و با گذشت زمان میزان پرولین در برگ های این ژنوتیپ کاهش معنی داری از خود نشان داد. نتایج مقایسه میانگین مشخص کرد که ژنوتیپ MCC426 در مرحله خوسرمایی افزایش قابل توجهی را در میزان پرولین نشان می دهد، در حالی که ژنوتیپ حساس MCC505 در مرحله خوسرمایی افزایش معنی داری در میزان پرولین نشان نداد که این نتیجه از بررسی میزان بیان ژن P5CS در دو ژنوتیپ مورد نظر در شرایط خوسرمایی و عدم خوسرمایی که در آزمایش اول انجام گرفت نیز به دست آمده بود. مقایسه میزان پرولین گیاهچه های خویافته در مقایسه با گیاهچه های شاهد که در دو ژنوتیپ مورد مطالعه انجام شد همبستگی بالایی بین مقاومت به یخ زدگی و سطوح افزایش یافته پرولین در دوره خوسرمایی را نشان داد. مطالعات گذشته نیز این نتیجه را تأیید می کنند. (Vanswaaij (1985) گزارش کرد

منابع

1. Agarwal, P.K., Agarwal, P., Reddy, M., and Sopory, S. K. 2006. Role of *DREB* transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Reports* 25: 1263-1274.
2. Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
3. Delauney, A., Hu, C., Kishor, P., and Verma, D. 1993. Cloning of ornithine delta-aminotransferase cDNA from *Vigna conitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry* 268: 18673-18678.
4. Dibax, R., Deschamps, C., Bernaldo de Aguiar Filho, J., Vieira, L.G.E., Molinari, H.B.C., DeCampos, M.K.F., and Quoirin, M. 2010. Organogenesis and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Eucalyptus saligna* with *P5CS* gene. *Biologia Plantarum* 54: 6-12.
5. Dinari, A., Niazi, A., Afsharifar, A. R., and Ramezani, A. 2013. Identification of upregulated genes under cold stress in cold-tolerant chickpea using the cDNA-AFLP approach. *PloS one* 8(1): e52757.
6. Dörffling, K., Schulenburg, S., Lesselich, G., and Dörffling, H. 2008. Absciscic acid and proline levels in cold hardened winter wheat leaves in relation to variety-specific differences in freezing resistance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 165: 230-239.
7. Esfandiari, E., Shekari, F., and Esfandiari, M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Journal of Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 35: 48-56.
8. Filippi, D.L., Fournier, M., Cameroni, E., Linder, P., Virgilio, C.D., Foti, M., and Deloche, O. 2007. Membrane stress is coupled to a rapid translational control of gene expression in chlorpromazine-treated cells. *Current Genetics* 52: 171-185.
9. Fowler, S., and Thomashow, M.F. 2002. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the *CBF* cold response pathway. *Plant Cell* 14: 1675-90.
10. Gentle, A., Anastasopoulos, F., and Mc Brien, N. A. 2001. High resolution semi quantitative real time PCR without the use of a standard curve. *BioTechniques* 31: 502-508.
11. Gilmour, S.J., Sebolt, A.M., Salazar, M.P., Everard, J.D., and Thomashow, M.F. 2000. Overexpression of the *Arabidopsis CBF3* transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiology* 124: 1854-65.
12. Gilmour, S.J., Zarka, D.G., Stockinger, E.J., Salazar, M.P., Houghton, J.M., and Thomashow, M.F. 2001. Low temperature regulation of the *Arabidopsis CBF* family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression. *The Plant Journal* 16: 433-442.
13. Gusta, L.V., Trischuk, R., and Weiser, C.J. 2007. Plant cold acclimation: The role of abscisic acid. *Journal of Plant Growth Regulation* 24: 308-318.
14. Harding, M.M., Ward, L.G., and Haymet, A.D.J. 1999. Type I 'antifreeze' proteins: Structure-activity studies and mechanisms of ice growth inhibition. *European Journal of Biochemistry* 264: 653-665.
15. Hsieh, T.H., Lee, J.T., Yang, P.T., Chiu, L.H., Chang, Y., Wang, Y.C., and Chan, M.T. 2002. Heterology expression of the *Arabidopsis* repeat/dehydration response element binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato. *Plant Physiology* 129: 1086-1094.
16. Jaglo, K.R., Kleff, S., Amundsen, K.L., Zhang, X., Haake, V., Zhang, J.Z., and Thomashow, M. F. 2001. Components of the *Arabidopsis* repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *brassica napus* and other plant species. *Plant Physiology* 127: 910-917.
17. Kafi, M., and Damghani, A.M. 2000. Resistance Mechanisms of Plants to Environmental Stresses. Ferdowsi University of Mashhad Press.
18. Konstantinova, T., Parvanova, D., Atanasov, A., and Djilianov, D. 2002. Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Science* 163: 157-164.
19. Murry, G.A., Eser, D., Gusta, L.V., and Eteve, G. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. In R.J. Summerfield (Ed.) *World Crops: Cool Season Food Legumes*. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. P. 831-843.
20. Nayyar, H., Bains, T.S., and Kumar, S. 2005. Chilling stressed chickpea seedling: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. *Environmental and Experimental Botany* 54: 275-285.
21. Nezami, A., and Bagheri, A. 2001. Screening of Mashhad chickpea (*Cicer arietinum* L.) collection for cold tolerance under field conditions. *Agricultural Sciences and Technology* 15: 155-162.
22. Rayapati, P.J., and Stewart, C.R. 1991. Solubilization of a proline dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. *Plant Physiology* 95: 787-791.

23. Singh, K.B., Malhotra, R.S., and Saxena, M.C. 1995. Additional sources of tolerance to cold in cultivated and wild *Cicer* species. *Crop Science* 35: 1491-1497.
24. Thomashow, M.F. 1999. Plant cold acclimation:freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 571-599.
25. Van swaaij, A.C., Jacobsen, E., and Feenstra, W.J. 1985. Effect of cold hardening, wilting and exogenously applied proline on leaf proline content and frost tolerance of several genotypes of *solanum*. *Physiologia Plantarum* 64: 230-237.

The pattern of *CBF* and *P5CS* genes expression under freezing stress and effects of cold acclimation on free proline changes in chickpea (*Cicer arietinum*)

Ghasemi^{1*}, R., Bagheri², A., Moshtaghi², N. & Shokouhi Far³, F.

1. MSc. Student of Biotechnology and Plant Breeding, Agricultural College, Ferdowsi University of Mashhad
2. Faculty Members of Biotechnology and Plant Breeding Department, Agricultural College; & Research Center for Plant Sciences; Ferdowsi University of Mashhad
3. Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 21 May 2014
Accepted: 13 February 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.34624

Introduction

Cold and freezing stress is one of the most important environmental stresses that affect the growth and yield of crops. One of the important processes in plant resistance to cold stress is known to acclimatize. In this process, the internal mechanisms of plants causes higher resistance to freezing stress after exposure to temperatures close to zero. Low temperature stress induce or inhibit the expression of certain genes. *P5CS* protein and transcription factor *DREB* (*CBF*) play an important role in adaptation and cold tolerance in plants. *P5CS* activates the enzymes in proline synthesis pathway and cause accumulation of this substance in plant that protects membranes and proteins against different effects of high concentrations of inorganic ions and high and low temperatures. Also *DREB* proteins with a conserved sequence bind to specific DNA sequences upstream of responsible genes in resistance to cold stress and leads to their expression. In this study the expression of *P5CS* and (*DREB1*)*CBF* genes that have an important role in the face of many plants to freezing and cold stress were examined in chickpea in both resistant and susceptible genotypes and used of Real time PCR method to evaluate the expression of these genes under stress and non-stress.

Materials & Methods

In the first experiment, the expression pattern of *P5CS* and *CBF* (*DREB1*) genes were evaluated at normal (23°C), acclimation (10°C) and freezing (-10°C) temperatures in two resistant (MCC426) and susceptible (MCC505) genotypes of chickpea, in two organs (leaf and stem). Briefly pots containing plants of both genotypes stored at 23°C for two weeks. After this period, plants are divided into two parts, half remained in the normal conditions and the other half were transferred to 10°C for cold acclimation. After 10 days, seedlings of normal and acclimation conditions transferred to a thermogradient freezer and after 15 minutes at -10°C, sampling was carried out from the leaves and stems. The simultaneous sampling of the control plants (normal conditions) were also done. After RNA extracting from samples and determine the concentration and quality by nanodrop and treatment with DNase I enzyme, cDNA synthesis was performed. After designing appropriate primers, the PCR process was optimized and Real time PCR was performed under optimized process conditions and gene expression levels were calculated. In the Second experiment free proline changes of seedlings in the acclimation phase were evaluated. Briefly after transferring of plants in the acclimation conditions, amount of proline at them were measured at appropriate intervals after exposure in acclimation conditions.

*Corresponding Author: rohollah.ghasemi@modares.ac.ir, Mobile: 09159048799

Results & Discussion

Results of analysis showed that the expression of these genes were significantly higher in resistant genotype than the susceptible one. Because of these genes are the important factors in plant resistance to stress especially cold and freezing stress, this can confirm that MCC426 genotype is resistant and MCC505 genotype is sensitive to cold. Also the interaction of genotype and organ sample in the control condition showed significant difference only for expression of P5CS gene. Since this gene is an important gene in freezing and cold stress, increased expression of this gene in MCC426 genotype that is resistant to cold not unexpected. But expression of CBF gene occurred only after cold stress induction and in the absence of stress is poor expression. In addition, it was revealed that the interaction of genotype and acclimation treatment on *CBF* genes in both genotypes had significant differences, but in *P5CS* gene only in MCC426, this trend was observed. However, changes of free proline as one of the mechanisms of cell protection in acclimation period in both genotypes showed that proline contents of MCC426 in response to acclimation treatment was gradually increased, but this increase in MCC505 genotype occurred during the early stages of acclimation, and proline has decreased over time.

Conclusion

According to the results, it generally seems, one of the main reason for tolerance to chilling is the high expression levels of the mentioned genes during chilling and freezing stress and therefore it can be used for inducing freezing tolerance into sensitive plants.

Key words: *Cicer arietinum*, Gene expression

بهبود خصوصیات کیفی دو رقم لوبیا با مصرف تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی فسفاتی و روی

محمود محمدی^{۱*}، کاظم خاوازی^۲، محمدجعفر ملکوتی^۳ و فرهاد رجالی^۴

۱- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

۲- استاد مؤسسه تحقیقات خاک و آب، بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

۳- استاد گروه خاکشناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران

۴- دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب، بخش تحقیقات بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۰۴

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کاربرد کودهای زیستی محتوی فسفر و روی بر کاهش ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای لوبیاچیتی (*Phaseolus vulgaris* L.)، آزمایش مزرعه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای این آزمایش شامل دو رقم لوبیاچیتی (تلاش و صدری)، چهار سطح فسفر (P_0 : شاهد، P_1 : مصرف سوپرفسفات تریپل بر اساس آزمون خاک، P_2 : مصرف کود زیستی فسفاتی و سوپرفسفات تریپل به میزان ۵۰ درصد توصیه بر اساس آزمون خاک و P_3 : کود زیستی فسفاتی) و سه سطح روی (Zn_0 : شاهد، Zn_1 : مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی و Zn_2 : کود زیستی فسفاتی شامل تلقیح با قارچ‌های میکوریزی و باکتری *Azotobacter* و تیمار زیستی روی تلقیح با باکتری‌های *Pseudomonas* بود. نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای بین دو رقم نشان نداد. کمترین مقدار این ویژگی‌ها (به جز اسید فیتیک) در رقم صدری مشاهده شد. تیمار فسفر و روی، تفاوت معنی‌دار در ویژگی‌های مورد بررسی ایجاد نمودند. کمترین میزان این ویژگی‌ها در تیمار فسفوری از تیمار P_2 و در تیمار روی از تیمارهای Zn_1 و Zn_2 به دست آمد. اثر متقابل تیمارهای فسفر و روی بر صفات مورد بررسی به جز بازدارنده‌های تریپسین معنی‌دار شد. کمترین میزان اسید فیتیک، اسید فنلیک، تانن از تیمار P_2Zn_1 و بازدارنده‌های تریپسین از تیمار P_2Zn_2 حاصل شد. کودهای زیستی فسفاتی مورد استفاده در این تحقیق با افزایش رشد و جذب عناصر غذایی و غنی‌سازی زیستی بذر با روی و آهن باعث بهبود کیفیت تغذیه‌ای دو رقم لوبیاچیتی شدند.

واژه‌های کلیدی: اسید فیتیک، تانن، روی، لوبیا، میکوریزا

مقدمه

مقابلشان با محیط خاک و ریشه موجب جذب عناصر غذایی، افزایش عملکرد، تعدیل اثرات نامطلوب انواع تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود ویژگی‌های خاک می‌گردد (Vessey, 2003). از جمله این کودها می‌توان به کودهای زیستی حاوی قارچ‌های میکوریزی (Marschner & Dell, 1994; Rejali, 2005) و باکتری‌های حل‌کننده اشکال نامحلول فسفر و روی اشاره نمود (Sarathambalm et al., 2010). قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه مثل باکتری *Azotobacter* و *Pseudomonas* توان افزایش رشد گیاه و جذب عناصر غذایی، به‌ویژه زمانی که با هم مصرف می‌شوند را دارند (Smith & Read, 2008). باکتری‌های حل‌کننده روی^۲

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با داشتن ۲۵-۳۰ درصد پروتئین ۶۰ درصد کربوهیدرات، ویتامین‌ها، فیبر، آنتی‌اکسیدان و ترکیبات آمینواسیدی حاوی آهن و روی اهمیت ویژه‌ای در رژیم غذایی دارد (Fageria & Santos, 2008). عوارض و پیامدهای زیست‌محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی و افزایش هزینه‌های تولید و تخریب منابع آب و خاک، منجر به ترغیب تولید و مصرف کودهای زیستی و به‌کارگیری نظام‌های زراعی سالم و پایدار شده است (Vessey, 2003). کودهای زیستی فرآورده‌های حاوی موجودات زنده کارآمدی هستند که برآیند اثرات

^۲ Zinc solubilizing bacteria

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۳۳۸۲۲۶۶۵، m.mohamadi@areeo.ac.ir

(Takahashi et al., 2005). تحقیقات نشان می‌دهد با مصرف کودهای زیستی حاوی سوش‌های *Bradyrhizobium japonicum*، باکتری‌های حل‌کننده فسفات *Bacillus Azospirillum spp.* *megaterium* var. *phosphaticum* و *Psudomonas spp.* در سویا غلظت روی و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها افزایش و میزان ترکیبات فنلی کاهش پیدا می‌کند (Hanan et al., 2008). بررسی‌ها در باقلا نشان می‌دهد که بیشترین رشد و کمترین میزان فنل کل در نتیجه کاربرد کودهای زیستی حاوی میکروارگانیسم‌های *Rhizobium leguminosarum* var. *faba* و *Aphanocapsa dlbida* و *Laurencia obtuse* به‌دست آمده است (Hamouda & Farfour, 2013). تانن‌ها موادی با وزن مولکولی بالا می‌باشند که با داشتن تعداد قابل‌ملاحظه‌ای گروه هیدروکسیل فنلیک پیوند قوی با پروتئین، پلی‌ساکاریدها و سایر ماکرومولکول‌ها تشکیل می‌دهند (Aura et al., 2010). غلظت تانن همبستگی معنی‌داری با رنگدانه‌های موجود در پوسته بذر دارد (Caldas & Blair, 2009). بازدارنده‌های تریپسین از شناخته‌ترین مواد بازدارنده پروتئازها می‌باشند و حضور آن‌ها در رژیم غذایی منجر به تشکیل کمپلکس غیرقابل‌برگشت آنزیم تریپسین بازدارنده تریپسین می‌گردد. این کمپلکس باعث کاهش تریپسین در روده و کاهش قابلیت هضم پروتئین موجود در رژیم غذایی می‌شود. این بازدارنده‌ها، رهاسازی اسیدآمینه ضروری مثل متیونین را کاهش می‌دهند (Gupta et al., 2000). بازدارنده‌های تریپسین موجود در لگوم‌ها مانع هیدرولیز پروتئین به آمینواسید شده و به‌خصوص هنگامی که لگوم‌ها پخته می‌شوند دارای اثرات مخربی هستند. این بازدارنده‌ها به‌میزان معنی‌داری باعث کاهش قابلیت هضم و استفاده از اسیدهای آمینه می‌شوند (Umata et al., 2005; Khat tab & Arntfield, 2009). مقدار این بازدارنده‌ها در لوبیای سفید و سیاه به‌ترتیب به‌میزان ۴/۱۳ و ۴/۳۷ واحد تریپسین در هر میلی‌گرم بذر گزارش شده است (Sangronis, 2007). کاهش و حذف صفات نامطلوب تغذیه‌ای برای بهبود کیفیت تغذیه‌ای لوبیا و سهولت استفاده از آن در رژیم غذایی ضرورت دارد. روش‌های مختلفی از قبیل حرارت‌دهی، خیساندن در آب، جوشاندن و جوانه‌دار کردن برای از بین بردن ترکیبات ضدتغذیه‌ای استفاده می‌شود که همگی در مراحل بعد از برداشت محصول می‌باشد (Baojin et al., 2009). اما بر روی روش‌های زراعی و زیستی کاهش‌دهنده این صفات قبل از برداشت محصول تحقیقات چندانی صورت نگرفته است. مطالعات نشان می‌دهد همه این ترکیبات به‌طور کامل توسط روش‌های فوق از بین نمی‌روند (Baojin et al., 2009).

یکی از راهکارهای مفید در آزاد کردن روی از ترکیبات نامحلول روی در خاک‌های آهکی و قلیایی می‌باشند (Abbas-Zade; Sarathambalm et al., 2010 et al., 2012).

لوبیا با داشتن ارزش غذایی بالا دارای یک‌سری ویژگی‌های نامطلوب تغذیه‌ای^۱ می‌باشد که باعث کاهش ارزش غذایی آن می‌شوند. مهم‌ترین این فاکتورها، اسید فیتیک (ميو اينوزيتول هگزافسفات)، اسید فنلیک، تانن، لکتین، فلاونوئیدها و بازدارنده‌های تریپسین^۲ می‌باشند (Xu & Chang, 2008; Campion et al., 2013; Coelho & Benedito, 2008). اسید فیتیک شکل اصلی ذخیره فسفات در دانه غلات و حبوبات است (Coelho & Benedito, 2008; Kaya et al., 2009). با وجود بالا بودن میزان عناصر معدنی آهن، روی، کلسیم و منیزیم در لوبیا، اما قابلیت جذب و استفاده این عناصر به‌دلیل ایجاد نمک فیتات به‌شدت کاهش می‌یابد (Malakouti, 2011; Cakmak et al., 2010; Coelho & Benedito, 2008). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی بین میزان جذب فسفر از خاک و غلظت اسید فیتیک و رابطه غیرمستقیمی بین فراهمی روی در خاک و افزایش مقدار آن در دانه با غلظت اسید فیتیک وجود دارد (Balakrishnan & Subramanian, 2012; Motashare-zade & Savaghebi, 2012). کوددهی روی باعث افزایش غلظت روی دانه و کاهش نسبت مولی اسید فیتیک به روی در ژنوتیپ‌های مختلف نخود شده است (Kaya et al., 2009). همزیستی میکوریزی از طریق افزایش کلونیزاسیون ریشه، ترشح ترکیبات سیدروفوری، افزایش تولید اسیدهای کلات‌کننده آهن و روی نظیر اسید موجنیک^۳ باعث اسیدی کردن ریزوسفر و آزادسازی روی نامحلول و روی شدید پیوندیافته در کنار انتقال از طریق هیف قارچی می‌گردد و به‌واسطه افزایش میزان روی دانه، غلظت اسید فیتیک کاهش پیدا می‌کند (Subramanian et al., 2009).

فلاونوئیدها و اسیدهای فنلیک از عمده ترکیبات فنلیکی موجود در گیاه می‌باشند. اسید فنلیک باعث ایجاد طعم نامطلوب، کاهش جذب مواد غذایی و کاهش هضم فیبر و پروتئین می‌شود (Chang, 2008; Xu & Khat tab & Arntfield, 2009). این اسید قابلیت ترکیب شدن با دیگر ترکیبات از قبیل کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها را دارد (Saharan et al., 2002). مطالعات نشان می‌دهند مقدار فنل کل در لوبیاهای پوست تیره از لوبیاهای پوست روشن بیشتر است

^۱ Antiutritional factors

^۲ Trypsin inhibitors

^۳ Mugineic acid

بررسی‌ها نشان می‌دهد ۸۵ درصد از اسید فنلیک بعد از پخته شدن باقی می‌ماند (Luthria & Pastor-Corrales, 2006). با توجه به مطالب ذکر شده و اهمیت موضوع، این تحقیق در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی لوبیا با هدف بررسی اثرات کاربرد کودهای زیستی فسفاتی و روی در مقیاس مزرعه ای بر کاهش ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای در دو رقم لوبیاچیتی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در اراضی لوبیاکاری بخش کیار استان چهارمحال و بختیاری واقع در کیلومتر ۴۵ جنوب شرقی شهرکرد با ۲۰۹۶ متر ارتفاع از سطح دریا و مختصات جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی و ۵۱ درجه و ۱۷ دقیقه طول شرقی انجام شد. رده بندی خاک این منطقه Fine, mixed, mesic, Typic Calcixerepts بود (Mohammadi, 1986). فاکتورهای این آزمایش عبارت بودند از: فاکتور اول ارقام لوبیاچیتی شامل C₁: تلاش و C₂: صدری؛ فاکتور دوم کاربرد فسفر در چهار سطح P₀: شاهد، P₁: استفاده

از کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل بر اساس آزمون خاک، P₂: استفاده از کود زیستی فسفاتی و مصرف ۵۰ درصد کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک و P₃: استفاده از کود زیستی فسفاتی؛ فاکتور سوم کاربرد روی در سه سطح شامل Zn₀: شاهد، Zn₁: استفاده از کود شیمیایی سولفات روی مطابق آزمون خاک و Zn₂: استفاده از کود زیستی حاوی روی بود. تیمار کود زیستی فسفاتی مورد استفاده شامل مایه تلقیح حاوی باکتری حل کننده فسفات از جنس *Azotobacter chroococcum strain 5* و سه گونه قارچ میکوریزا *Glomus intraradices*، *Glomus etunicatum* و *Glomus mosseae* بود. کود زیستی روی حاوی باکتری‌هایی از جنس *Pseudomonas aeruginosa strain MPFM* و *fluorescens strain 187 Pseudomonas* بود. در هر بلوک آزمایشی ۲۴ کرت آزمایشی ایجاد شد. تیمارها به صورت تصادفی در کرت‌ها و بلوک‌ها اختصاص داده شدند. قبل از اجرای آزمایش نمونه مرکب خاک از عمق صفر - ۳۰ سانتی متری تهیه و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در آزمایشگاه تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1. Soil chemical and physical characteristics of the research site

Depth	Sand	Silt	Clay	TNV	OC	N	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	pH	EC
عمق	شن	سیلت	رس	مواد خنثی شونده	کربن آلی	نیتروژن	مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر		هدایت هیدرولیکی
Cm				(%)			(mg Kg ⁻¹)							(dS m ⁻¹)
0-30	20	54	26	24.5	0.92	0.073	0.93	8.96	0.58	4.11	311	6	7.81	0.88

Zn₁ و اوره ۵۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت مصرف شدند. نحوه مصرف کودهای کاربردی به صورت مصرف خاکی و مخلوط نمودن با خاک سطحی بود. بذور مورد استفاده در این آزمایش از مرکز تحقیقات ملی لوبیا (ایستگاه تحقیقات کشاورزی خمین استان مرکزی) و مایه‌های تلقیح و کودهای زیستی از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. کود زیستی فسفاتی شامل قارچ‌های میکوریزی (با جمعیت ۶۰ اسپور در هر گرم) و باکتری‌های حل کننده فسفات از جنس *Azotobacter* حاوی $10^8 \times 1/8$ سلول باکتری در هر گرم بود. به ازای هر بذور مقدار دو گرم از این کود در چاله کاشت زیر بذور قرار گرفت. در مورد کود زیستی روی، بذرها قبل از کاشت با مایه تلقیح حاوی باکتری‌های حل کننده اشکال کم محلول روی از جنس *Pseudomonas* با تراکم جمعیت $10^8 \times 2/3$ باکتری در هر گرم با نسبت پنج درصد تلقیح شدند

خاک مزرعه دارای بافت لوم سیلتی و فاقد محدودیت شوری بود و با توجه به بالاتر بودن غلظت پتاسیم و منگنز قابل استفاده نسبت به حد بحرانی، نیازی به مصرف کودهای پتاسیمی و منگنزی نبود. این خاک از نظر فسفر و روی قابل جذب در زیر حد بحرانی قرار داشت (جدول ۱). پس از آماده سازی قطعه زمین، کشت محصول به صورت خطی کشت به صورت خطی با فاصله بین دو ردیف ۵۰ و فاصله دو بوته روی ردیف ۱۰ سانتی متر در تاریخ ۱۳ خردادماه ۱۳۹۲ انجام گرفت. هر کرت آزمایشی (به ابعاد ۱۲×۳ متر مربع) شامل شش خط به طول چهار متر و دو خط به صورت نکاشت در نظر گرفته شد. کشت بر روی خطوط به صورت دستی و به روش هیرم کاری انجام شد. کودهای فسفر (سوپرفسفات تریپل) به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در تیمار P₁ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار در تیمار P₂، روی (سولفات روی) به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار در تیمار

(بذر مال). به منظور چسبندگی بهتر سلول‌های باکتری بر روی بذرها از محلول صمغ عربی استفاده شد. بعد از اندکی خشک شدن سطوح بذور در هوا بلافاصله اقدام به کشت شد. در طول فصل رشد مراقبت‌های زراعی لازم شامل آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز، آفات و بیماری‌ها به‌طور یکنواخت برای همه تیمارها اعمال شد. در پایان فصل رشد برداشت محصول با حذف دو خط کناری و نیم‌متر از ابتدا و انتها در سطح شش مترمربع انجام و پس از اندازه‌گیری عملکرد، دانه‌ها آسیاب شدند و از الک ۶۰مشی عبور داده شدند و برای اندازه‌گیری خصوصیات کیفی نامطلوب آماده گردیدند.

آماده‌سازی نمونه

برای آماده‌سازی نمونه، ابتدا بذور توسط آسیاب پودر گردیدند و از الک با اندازه ۶۰مشی عبور داده شدند و در یخچال جهت اندازه‌گیری خصوصیات کیفی نامطلوب تغذیه‌ای نگهداری گردیدند.

اسید فیتیک

میزان اسید فیتیک دانه به روش Haug & Lantzs (1983) اندازه‌گیری شد. اساس این روش بر مبنای رسوب فیتات آهن و اندازه‌گیری آهن باقیمانده در محلول می‌باشد. بدین‌منظور نیم‌گرم بذر آسیاب شده لوبیا با ۲۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (pH=۳) به مدت سه ساعت عصاره‌گیری شد و با استفاده از آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس یک میلی‌لیتر از این عصاره به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل شده و یک میلی‌لیتر از محلول آهن فریک به آن اضافه گردید. لوله‌های مورد آزمایش روی پایه‌ای مناسب روی حمام آب گرم ثابت شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش نگهداری شدند. پس از اتمام این دوره و سرد شدن لوله‌ها و رسیدن به دمای اتاق، محتوای لوله‌ها مخلوط و در دور ۳۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در ادامه یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده رویی به لوله دیگری منتقل شده و با افزودن ۱/۵ میلی‌لیتر محلول بی‌پیریدین به نمونه‌ها جذب نوری در طول موج ۵۱۹ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (مدل Shimadzu UV 3100) قرائت شد.

اسید فنلیک و تانن

برای اندازه‌گیری این دو ویژگی کیفی ابتدا آماده‌سازی نمونه به روش Xu & Chang (2008) انجام شد. در این روش ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه پودر شده در تیوب سانتریفیوژ یا لوله آزمایش ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر محلول استن-آب مقطر اسید

استیک با نسبت حجمی ۷۰-۲۹/۵-۰/۵ بر روی آن ریخته و به مدت سه ساعت نمونه‌ها شیک شد. در ادامه نمونه به مدت ۱۲ ساعت در تاریکی نگه داشته و قبل از سانتریفیوژ مرحله دوم نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و در ادامه نمونه‌ها برای بار دوم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و عصاره صاف شده استحصالی در یخچال نگهداری شد. اندازه‌گیری اسید فنلیک به روش فولین-سیوکالتو^۱ بر اساس قطبیت گروه‌های هیدروکسیل فنلی که قدرت احیاء کنندگی زیادی دارند، انجام شد (Makkar et al., 1993). در این روش از اسید گالیک^۲ به عنوان استاندارد استفاده شد. برای این کار محلول فولین-سیوکالتو و کربنات سدیم هفت درصد به عصاره استخراجی اضافه شده و در ادامه جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. غلظت اسید فنلیک بر اساس معادل میلی گرم اسید گالیک در هر گرم نمونه^۳ بیان می‌شود. تانن از روش Makkar et al., (1993) با استفاده از پلی‌وینیل‌پلی پیرولیدون^۴ (PVPP) اندازه‌گیری شد. این ماده شیمیایی با تانن واکنش داده و آن را رسوب می‌دهد. جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. در این روش ابتدا میزان ترکیبات تاننی غیرفنل اندازه‌گیری شد و از میزان ترکیبات فنلی کم شد تا میزان تانن به دست آید. واحد بیان کننده تانن نیز مانند اسید فنلیک بر حسب معادل میلی گرم اسید گالیک در هر گرم نمونه است.

بازدارنده‌های تریپسین

این بازدارنده‌ها به روش Kakade et al., (1974) اندازه‌گیری شدند. در این روش فعالیت بازدارنده‌های تریپسین به‌طور غیرمستقیم از طریق متوقف کردن فعالیت تریپسین اندازه‌گیری شد. در این روش یک ماده سنتزی به نام BAPNA^۵ مورد استفاده قرار گرفت که به وسیله تریپسین هیدرولیز شده و تولید ماده زرد رنگ نیتروآنیلید^۶ می‌نماید. میزان توقف در عصاره از طریق قرائت دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر به عنوان فعالیت بازدارنده‌های تریپسین

^۱ Folin - Ciocalteu

^۲ Gallic Acid

^۳ mg GAE g-1 sample

^۴ polyvinylpyrrolidone (PVPP)

^۵ Benzoyl-DL-arginine-para-nitroanilide hydrochloric (BAPNA)

^۶ P-nitroanilide

شناخته می‌شود. بیان نتایج بر حسب میلی گرم تریپسین خالص متوقف شده^۱ در هر گرم بذر است.

داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS(9.2) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چنددامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اسید فیتیک

در این آزمایش، اختلاف معنی‌داری در میزان اسید فیتیک دو رقم مورد استفاده مشاهده نشد (جدول ۲). مقدار اسید فیتیک در رقم تلاش و صدری به ترتیب ۴/۵۶ و ۵/۴۶ گرم در کیلوگرم بود (جدول ۳). تیمار فسفری بر میزان اسید فیتیک تأثیر معنی‌دار ($P \leq 0.05$) داشت. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد بیشترین میزان اسید فیتیک در نتیجه کاربرد تیمار P_1 به میزان ۵/۷۵ گرم در کیلوگرم به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۱۷ درصد افزایش را نشان داد. بررسی‌ها نشان می‌دهد با مصرف کود فسفاتی میزان اسید فیتیک افزایش پیدا می‌کند (Malakouti, 2011). در این آزمایش با مصرف کودهای شیمیایی فسفاتی، فسفر دانه و میزان اسید فیتیک افزایش پیدا می‌کند. این نتیجه با نتایج بررسی‌های Kaya et al, (2009) و Motashare-Zade & Savaghebi (2012) مطابقت دارد. تیمار روی باعث تفاوت معنی‌دار بر میزان اسید فیتیک دانه شد ($P \leq 0.01$) (جدول ۲). کمترین میزان اسید فیتیک از تیمار Zn_2 به میزان ۴/۹۲ گرم در کیلوگرم به دست آمد که با Zn_1 در یک گروه مشترک آماری قرار گرفتند و نسبت به تیمار شاهد (Zn_0) ۱۳ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۳). از بین اثرات متقابل، اثرات متقابل فسفر با روی و رقم با روی بر میزان اسید فیتیک معنی‌دار شدند (جدول ۱). کمترین میزان اسید فیتیک از P_2Zn_1 به میزان ۳/۹۰ گرم در کیلوگرم به دست آمد که در مقایسه با تیمار P_1Zn_0 با ۶/۶۶ گرم در کیلوگرم اسید فیتیک، ۴۲ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۴). در خصوص اثر متقابل رقم با روی بیشترین و کمترین میزان اسید فیتیک از تیمارهای C_1Zn_1 و C_2Zn_0 به ترتیب به میزان ۵/۹۲ و ۴/۱۰ گرم در کیلوگرم به دست آمد. در این تحقیق کاهش مقدار اسید فیتیک دانه به دلیل افزایش میزان روی دانه با مصرف کود شیمیایی سولفات روی (تیمار Zn_1) و آزادسازی و افزایش جذب روی با مصرف تیمار زیستی روی (تیمار Zn_2) می‌باشد. این نتیجه با نتایج تحقیقات Motashare-Zade & Savaghebi (2012)

(2012) Balakrishnan & Subramanian مطابقت دارد. Ryan et al, (2008) گزارش نمودند در ژنوتیپ‌های مختلف گندم با مصرف کود فسفری به طور متوسط ۳۶ درصد کاهش در غلظت روی، ۱۷ درصد افزایش در غلظت فسفر و ۱۹ درصد افزایش در میزان اسید فیتیک دانه مشاهده می‌شود. Erdal et al, (2002) با تحقیق بر روی ۲۰ رقم گندم در ترکیه گزارش نمودند که در شرایط کمبود روی، غلظت روی دانه ۷-۱۱ میلی گرم در کیلوگرم بود که با مصرف تیمار کود روی، به میزان ۲۳-۱۴ میلی گرم در کیلوگرم افزایش پیدا کرد. در ضمن با کاربرد روی، غلظت فسفر از ۳۹/۰ درصد به ۳۵/۰ درصد و غلظت اسید فیتیک از ۷/۱۰ به ۱۰/۱ میلی گرم در گرم کاهش پیدا کرد. بررسی‌های Balakrishnan & Subramanian (2012) در ذرت نشان داد که همزیستی میکوریزی باعث تولید دانه‌هایی با ۱۵-۱۰ درصد غلظت بیشتر آهن و روی نسبت به تیمار شاهد شد و غلظت اسید فیتیک را به میزان ۱۰ درصد کاهش داد. باکتری‌های حل‌کننده روی توانایی انحلال روی را از منابع نامحلول و کم‌محلول روی توسط مکانیسم‌های مختلفی از قبیل افزایش میزان پروتون و کاهش pH، تولید اسیدهای آلی مانند اسید گلوکونیک و مخصوصاً اسید دوکتوگلوکونیک و ترشح مواد کلات‌کننده و سیدروفور، تولید اسیدهای معدنی مانند اسید سولفوریک، نیتریک و کربنیک و تولید هورمون اکسین به صورت محلول دارا می‌باشند (Marschner & Dell, 1994; Abbaszade; Shahab & Ahmed, 2008).

از دلایل کاهش میزان اسید فیتیک در تیمارهای زیستی افزایش آزادسازی، جذب و انتقال روی در داخل گیاه و در تیمارهای مصرف روی فراهمی و تأمین نیاز روی گیاه و اثر ضدیتی^۲ روی با فسفر می‌باشد. با افزایش غلظت روی، جذب فسفر کاهش یافته و باعث کاهش غلظت اسید فیتیک نیز می‌گردد. از راه‌های اساسی در برطرف کردن سوء تغذیه ناشی از کمبود آهن و روی، افزایش مقدار این عناصر در غلات و حبوبات و یا افزایش جذب آهن و روی از طریق کاهش مقدار اسید فیتیک، ترکیبات فنلی، تانن و لکتین می‌باشد (Welch, 2002).

اسید فنلیک

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری در میانگین غلظت اسید فنلیک در ارقام مورد مطالعه مشاهده نگردید (جدول ۲). مقدار این اسید در رقم تلاش ۵/۶۷ و در رقم صدری ۵/۴۷ میلی گرم اسید گالیک در گرم دانه^۳ بود (جدول ۲).

^۲ Antagonistic

^۳ mgGAE g-1seed

^۱ mg TI g-1 sample

معنی‌دار ($P \leq 0.01$) در مقدار اسید فنلیک شد، به‌طوری‌که کمترین مقدار در نتیجه تیمار P_2 به‌میزان ۴/۲۸ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم دانه به‌دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد، ۳۵ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۳).

میزان اسید فنلیک در رقم صدری ۴/۵ درصد کمتر از رقم تلاش بود. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مقدار ترکیبات فنلی با توجه به نوع ژنوتیپ لوبیا متغیر است و مقدار این ترکیبات در لوبیاهای سیاه و پوست تیره از لوبیاهای با رنگ روشن بیشتر است (Heimler *et al.*, 2005). تیمار فسفری باعث ایجاد تفاوت

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر استفاده از کودهای زیستی فسفاتی و روی بر ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای در دو رقم لوبیا

Table 2. Analysis of variance of the effects of phosphate and Zn bio-fertilizer on the antinutritional factors of two cultivars of bean

درجه آزادی (Df)				منابع تغییرات (Source of variance)	
میانگین مربعات (Mean of squares)					
اسید فیتیک Phytic Acid	اسید فنلیک Phenolic Acid	تانن Tannin	بازدارنده‌های تریپسین Trypsin Inhibitors		
رقم (Cultivar)	1	0.75 ^{ns}	0.1 ^{ns}	0.3 ^{ns}	1
تکرار (رقم) (Cultivar) (Replication)	4	4.1	8	22.8	4
فسفر (A) (Phosphorus)	3	6*	16**	10.7**	3
روی (B) (Zinc)	2	0.14**	7**	9.3**	2
فسفر × روی (A×B)	6	3.7*	1.7*	0.7 ^{ns}	6
رقم × فسفر (Cultivar×A)	3	2.1 ^{ns}	0.3 ^{ns}	0.2 ^{ns}	3
رقم × روی (Cultivar×B)	2	18.7**	2 ^{ns}	0.1 ^{ns}	2
رقم × فسفر × روی (Cultivar×A×B)	6	3 ^{ns}	2*	0.8 ^{ns}	6
خطا (Error)	4	1.6	0.7	0.4	4
کل (Total)	71				
ضریب تغییرات (درصد) (CV%)		4.8	12.7	11	9.5

^{ns} و * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

ns, * and **: Non significant and significant $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$ respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای فسفری و روی بر ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای در دانه دو رقم لوبیاجیتی

Table 3. Mean comparison of phosphate and Zn bio-fertilizers simple effects on the antinutritional factors of two cultivars of bean

رقم (Cultivar)	اسید فیتیک Phytic Acid	اسید فنلیک Phenolic Acid	تانن Tannin	بازدارنده‌های تریپسین Trypsin Inhibitors
	گرم در کیلوگرم (g kg ⁻¹)	میلی گرم اسید گالیک در گرم دانه (mg GA g ⁻¹ Seed)	میلی گرم تریپسین در گرم دانه (mg Tryp g ⁻¹ Seed)	
C ₁ (Talash) - تلاش	4.56a	5.67a	4.34a	6.60a
C ₂ (Sadri) - صدری	5.46a	5.47a	4.42a	6.47a
P ₀	4.91ab	6.57a	5.28a	7.24a
P ₁	5.75a	6.29a	5.0ba	6.91ab
P ₂	4.35b	4.28c	3.28c	5.46b
P ₃	5.04b	5.15b	3.91b	6.52b
Zn ₀	5.68a	6.18a	4.94a	7.24a
Zn ₁	5.07b	5.47b	4.32b	6.30b
Zn ₂	4.92b	5.0b	3.87b	6.10b

در هر ستون میانگین‌هایی که در هر قسمت حداقل در یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

C₁: رقم تلاش، C₂: رقم صدری، P₀: شاهد، P₁: مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل، P₂: مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل به همراه کود زیستی فسفاتی، P₃: مصرف کود زیستی فسفاتی، Zn₀: شاهد، Zn₁: مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی و Zn₂: کود زیستی روی

Means in each column and part by a different letter are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple range test.

C₁: Talash cultivar, C₂: Sadri cultivar, P₀: Blank, P₁: Use of 100 kg ha⁻¹ TSP, P₂: Use of 50 kg ha⁻¹ TSP + Phosphate bio-fertilizer P₃: Use of phosphate bio-fertilizer, Zn₀: Control, Zn₁: 50 kg ha⁻¹ ZnSO₄·7H₂O, and Zn₂: Use of Zn bio-fertilizer

تیمار روی بر این ویژگی در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0.01$) نشان داد. کمترین مقدار اسید فنلیک به میزان پنج میلی گرم اسید گالیک در گرم دانه از تیمار Zn_2 حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (Zn_0) با ۶/۱۸ میلی گرم اسید گالیک ۲۴ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۳). اثر متقابل تیمارهای فسفر با روی بر این صفت معنی‌دار شد ($P \leq 0.05$) (جدول ۲). حداقل مقدار این صفت از تیمار P_2Zn_1 به میزان ۳/۱۳ میلی گرم اسید گالیک در هر گرم دانه به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد، ۱۲۷ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۴). این کاهش در اسید فنلیک از تیمار Zn_2 می‌تواند ناشی از آزادسازی روی به دلیل استفاده از باکتری‌های آزادکننده روی باشد (Marschner & Dell, 1994; Abbaszade et al., 2012; Shahab & Ahmed, 2008). این نتیجه با نتایج (Aura et al., 2010) و (Cárdenas et al., 2010) در لوبیا مطابقت دارد. این محققان نشان دادند که در

بذرهای لوبیا تولیدی با استفاده از کودهای زیستی غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای کل در مقایسه با بذرهای تولیدی با مصرف کود شیمیایی کمتر است. همچنین با مصرف کودهای زیستی غلظت آنتی اکسیدانت‌ها افزایش پیدا می‌کند. بررسی‌های (Chong et al., 2007) نشان داد در شرایط کمبود آهن و روی، غلظت ترکیبات فنلی در شبدر افزایش پیدا کرد. اسید فنلیک به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیلی با کاتیون‌های دوظرفیتی عمدتاً آهن و روی تشکیل کلات داده و منجر به کاهش قابلیت دسترسی به این عناصر می‌گردند و با کاهش غلظت روی و آهن در دانه، غلظت اسید فنلیک افزایش پیدا می‌کند (Hanan et al., 2010; Cárdenas et al., 2008). قارچ‌های میکوریزی نقش مهمی در تأمین عناصر با تحرک پایین در خاک از قبیل فسفر، روی و مس دارند (Rejali, 2005; Smith & Read, 2008).

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای و گروه‌بندی میانگین‌ها

Table 4. Effect of experiment treatments on the antinutritional factors and mean groups

تیمار (Treatment)	اسید فیتیک Phytic Acid	اسید فنلیک Phenolic Acid	تانن Tannin	بازدارنده‌های تریپسین Trypsin Inhibitors
گرم در کیلوگرم	میلی گرم اسید گالیک گرم دانه	میلی گرم اسید گالیک گرم دانه	میلی گرم تریپسین در گرم دانه	
(g kg ⁻¹)	(mg GA g ⁻¹ Seed)	(mg GA g ⁻¹ Seed)	(mg Tryp g ⁻¹ Seed)	
P ₀ Zn ₀	4.56cd	7.10a	5.70a	8.00a
P ₀ Zn ₁	4.74cd	6.70b	5.44ab	6.91a
P ₀ Zn ₂	5.42c	5.91b	4.70b	6.81a
P ₁ Zn ₀	6.66a	6.23b	5.09ab	7.31a
P ₁ Zn ₁	6.21b	6.73ab	5.22ab	6.68a
P ₁ Zn ₂	4.38cd	5.91b	4.80b	6.74a
P ₂ Zn ₀	4.33cd	5.45bc	4.34bc	6.66a
P ₂ Zn ₁	3.90d	3.13d	2.45d	5.03a
P ₂ Zn ₂	4.21cd	4.28cd	3.05cd	4.70a
P ₃ Zn ₀	5.07bc	5.95b	4.63ab	7.00a
P ₃ Zn ₁	5.00bc	5.34bc	4.18bc	6.59a
P ₃ Zn ₂	5.06bc	4.15cd	2.93cd	6.00a

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

C₁: رقم تلاش، C₂: رقم صدری، P₀: شاهد، P₁: مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل، P₂: مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل به همراه کود زیستی

فسفاتی، P₃: مصرف کود زیستی فسفاتی، Zn₀: شاهد، Zn₁: مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی و Zn₂: کود زیستی روی

Means in each column by a different letter are significantly different ($P \leq 0.05$) by Duncan's Multiple range test.

C₁: Talash cultivar, C₂: Sadri cultivar, P₀: Blank, P₁: Use of 100 kg ha⁻¹ TSP, P₂: Use of 50 kg ha⁻¹ TSP + Phosphate bio-fertilizer P₃: Use of phosphate bio-fertilizer, Zn₀: Control, Zn₁: 50 kg ha⁻¹ ZnSO₄7H₂O, and Zn₃: Use of Zn bio-fertilizer

تحقیقات متعددی گزارش شده است (Subramanian et al., 2009; Mohammadi et al., 2010; Sarathambalm et al., 2015). این افزایش می‌تواند ناشی از انتقال توسط هیف قارچی، اسیدی‌شدن ریزوسفر، تولید سیدروفورهای آهن و روی و بهبود شرایط کلات نمودن و افزایش فراهمی این دو عنصر

مطالعات (Marschner & Dell (1994) نشان می‌دهد حدود ۲۵ درصد از روی گیاه میزبان از همزیستی گیاهان با قارچ‌های میکوریزی تأمین می‌شود. افزایش جذب آهن و روی در دانه در اثر استفاده از کودهای زیستی فسفاتی در نتایج

باشد. باکتری‌های سودوموناس می‌توانند با ترشح سیدروفورها، هورمون‌های گیاهی، ترکیبات با وزن مولکولی پایین و برخی آنزیم‌ها به افزایش جذب آهن و روی در دانه کمک می‌کنند (Shahab & Ahmed, 2008; Abbaszade et al., 2012). کاهش نسبی در غلظت اسید فنلیک در نتیجه کاربرد تیمارهای زیستی حاوی روی، می‌تواند به دلیل نقش آن‌ها در افزایش رشد گیاه و بهبود شرایط غنی‌سازی زیستی عناصر غذایی کاهش‌دهنده ترکیبات فنلی مانند آهن و روی باشد. در این تحقیق با افزایش غلظت آهن و روی در دانه غلظت اسید فنلیک کاهش یافت.

تانن

بین دو رقم استفاده‌شده در این تحقیق اختلاف معنی‌داری در غلظت تانن مشاهده نشد (جدول ۲). میزان تانن در رقم تلاش و صدری ۴/۳ و ۴/۴ میلی گرم اسید گالیک در گرم دانه بود (جدول ۳). اثرات تیمار فسفر، روی و اثر متقابل رقم در فسفر و رقم در روی در سطح یک درصد ($P \leq 0.01$) و اثرات متقابل فسفر در روی و رقم در فسفر در روی در سطح پنج درصد ($P \leq 0.05$) بر این صفت معنی‌دار شدند (جدول ۲). تیمار فسفر باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در مقدار تانن شد، به‌طوری‌که حداقل مقدار تانن از تیمار P_2 به میزان ۳/۳ به دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد، ۳۷/۷ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۳). کمترین مقدار تانن به میزان ۳/۸۷ میلی گرم اسید گالیک در گرم دانه از تیمار Zn_2 به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۲۲ درصد کاهش داشت (جدول ۳). حداقل مقدار تانن در نتیجه کاربرد تیمار P_2Zn_1 به میزان ۲/۴۵ میلی گرم اسید گالیک در گرم دانه حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۵۷ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۴). مقدار تانن در بین انواع مختلف لوبیا متفاوت است. در لوبیا این مواد عمدتاً در پوسته بذر قرار دارند و تعیین‌کننده رنگ کلی و طیف غالب رنگی دانه می‌باشند (Caldas & Blair, 2009). غلظت تانن همبستگی معنی‌داری با رنگدانه‌های موجود در پوسته بذر دارد. لوبیاهای با پوست تیره در مقایسه با لوبیاهای با پوست روشن مقدار تانن بیشتری دارند (Aura et al., 2010). لوبیاهای قرمز دارای میانگین تانن ۸/۵ میلی گرم در هر گرم بذر می‌باشند (Aura et al., 2010). تانن موجود در لوبیا به‌صورت تانن متراکم می‌باشد. تانن متراکم میل بالایی برای ترکیب با پروتئین از طریق پیوند هیدروژنی دارد و باعث رسوب آنزیم‌های میکروبی و هضمی می‌شود (Saharan et al., 2002; Ariza-Nieto et al., 2010). بررسی‌های (et al., 2010). لوبیا نشان داد که غلظت تانن متراکم تأثیر زیادی بر دسترسی

آهن داشته و باعث کاهش فراهمی آن می‌گردد و با افزایش غلظت آهن، میزان آنتی‌اکسیدانت‌ها افزایش و غلظت تانن کاسته می‌شود. غنی‌سازی زیستی^۱ باعث افزایش غلظت عناصر غذایی در لوبیا شده و افزایش عناصر غذایی مانند آهن و روی منجر به کاهش فاکتورهای ضدتغذیه‌ای از قبیل تانن‌ها، فیتازها و اکسالات‌ها شده و از این طریق فراهمی عناصر غذایی را برای مصرف‌کننده افزایش می‌دهند (Welch, 2002). تیمارهای زیستی استفاده‌شده در این تحقیق علاوه بر جذب آب، مواد غذایی، بهبود رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاه توانستند از طریق افزایش جذب و فراهمی عناصر آهن و روی به‌طور غیر مستقیم غلظت تانن را کاهش داده و از این طریق بر افزایش کیفیت لوبیا و کاهش ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای تأثیر گذاشتند.

بازدارنده‌های تریپسین

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که میانگین غلظت بازدارنده‌های تریپسین در دو رقم تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). مقدار این بازدارنده در رقم تلاش ۶/۶ و در رقم صدری ۶/۴ میلی گرم واحد تریپسین در گرم دانه بود (جدول ۳). تیمار فسفری باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در روی در سطح یک درصد ($P \leq 0.01$) در مقدار این صفت شد، به طوری که کمترین میزان از تیمار P_2 به میزان ۵/۴۶ میلی گرم تریپسین در گرم دانه به دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد ۲۵ درصد کاهش را نشان داد و با تیمار P_3 در یک گروه آماری مشترک قرار گرفت (جدول ۳). از دلایل کاهش این ویژگی در تیمارهای زیستی P_2 و P_3 افزایش رشد و بهبود جذب عناصر غذایی از قبیل آهن و روی با مکانیسم‌های منحصربه‌خود می‌باشد (نتایج ارائه نشده‌اند). اثر تیمار روی بر این ویژگی در سطح یک درصد ($P \leq 0.01$) معنی‌دار شد. کمترین مقدار بازدارنده تریپسین در نتیجه کاربرد تیمار Zn_2 به میزان ۶/۱ میلی گرم تریپسین در گرم دانه حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۱۶ درصد کاهش را نشان داد. با وجود کم‌تر بودن میزان بازدارنده تریپسین در تیمار Zn_1 ، این تیمار با تیمار Zn_2 در یک گروه مشترک آماری قرار گرفتند و تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۳). این کاهش در میزان بازدارنده تریپسین در نتیجه تأثیر تیمار Zn_1 ناشی از افزایش جذب روی دانه با تأمین روی مورد نیاز گیاه از طریق افزودن کود سولفات روی به خاک و در تیمار Zn_2 ناشی از آزادسازی روی به دلیل استفاده از باکتری‌های آزادکننده روی بود. اثر متقابل مصرف

^۱ Bio-enrichment

مستقیم باعث کاهش ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای و افزایش کیفیت و ارزش غذایی در دو رقم لوبیا مورد مطالعه شد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد کودهای زیستی فسفاتی و روی به‌طور جداگانه و یا به‌صورت ترکیبی سبب کاهش ویژگی‌های کیفی نامطلوب در دو رقم لوبیاچیتی مورد مطالعه شدند. میکروارگانیسم‌های استفاده‌شده در تیمارهای زیستی می‌توانند از طریق همزیستی میکوریزی و افزایش کلونیزاسیون ریشه، ترشح ترکیبات سیدروفوری و تولید اسیدهای کلات‌کننده باعث افزایش فراهمی و جذب عناصر غذایی فسفر، نیتروژن، آهن و روی برای گیاه شوند. همچنین ترشح هورمون‌های گیاهی و آنزیم‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه با کاربرد این تیمارها افزایش پیدا کرد. غنی‌سازی زیستی بذر با روی و آهن که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، به‌طور غیرمستقیم باعث کاهش مقدار اسید فیتیک و دیگر ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای در لوبیا شد. در شرایط این تحقیق بهترین تیمار استفاده از مایه تلقیح *Azotobacter* و قارچ‌های میکوریزی به همراه مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل و ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی (تیمار P_2Zn_1) بود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری صمیمانه بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب برای دراختیارگذاشتن قارچ‌های میکوریزی و مایه تلقیح‌های مورد نیاز و آقای مهندس فرزاد برای کمک در انجام تجزیه‌های آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌نماید.

تیمارهای فسفر و روی بر این خصوصیت معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین‌ها نشان داد کمترین مقدار بازدارنده از تیمار P_2Zn_2 به میزان ۴/۷ میلی گرم تریپسین در گرم دانه حاصل شد که نسبت به شاهد ۴۱ درصد کاهش را نشان داد. مصرف کود شیمیایی فسفاتی باعث افزایش میزان فسفر دانه و به‌دلیل اثر رقابتی فسفر با عناصر آهن و روی باعث کاهش مقدار این عناصر و افزایش مقدار بازدارنده تریپسین می‌گردد. اما در تیمارهایی که مقدار روی و آهن افزایش می‌یابد، میزان بازدارنده تریپسین کاهش پیدا می‌کند. برای خنثی کردن اثر بازدارنده‌های تریپسین و دیگر خصوصیات کیفی نامطلوب از روش‌های متعدد حرارت‌دهی همچون برشته کردن، پختن، جوشاندن در آب، تشعشع با اشعه گاما و مادون قرمز و جوانه‌دار کردن استفاده می‌شود (Khattab & Arntfield, 2009). وضعیت تغذیه مناسب گیاه از نظر عناصر غذایی به‌ویژه عنصری که خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند مانند آهن و روی باعث کاهش ویژگی‌های کیفی نامطلوب تغذیه‌ای در لوبیا خواهد شد (Ariza-Nieto et al., 2007; Cárdenas et al., 2009; Khattab & Arntfield, 2010). میکروارگانیسم‌های استفاده‌شده در تیمارهای کودهای زیستی فسفاتی و روی می‌توانند از طریق همزیستی میکوریزی و افزایش کلونیزاسیون ریشه (Rejali, 2005)، ترشح ترکیبات سیدروفوری و تولید اسیدهای آلی و کلات‌کننده (Subramanian et al., 2009) باعث افزایش فراهمی و جذب عناصر غذایی فسفر، نیتروژن، آهن و روی برای گیاه شوند. همچنین ترشح هورمون‌های گیاهی و آنزیم‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه با کاربرد این تیمارها افزایش پیدا خواهد نمود. غنی‌سازی زیستی بذر با روی و آهن که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، به‌طور غیر

منابع

1. Abbas-Zadeh, P., Savaghebi, G.R., Asadi-Rahmani, H., Rejali, F., Farahbakhsh, M., Motashare-Zaade, B., and Omidvari, M. 2012. The effect of pseudomonas fluorescent on increasing of zinc compounds dissolution and improve its uptake by bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Soil Research 26(20): 195-205. (In Persian).
2. Ariza-Nieto, M., Blair, M.W., Welch, R.M., and Glahn, R.P. 2007. Screening of iron bioavailability patterns in eight bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes using the Caco-2 cell in vitro model. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 7950-7956.
3. Aura, M.D., Gina, V.C., and Mathew, W.B. 2010. Concentrations of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats. Journal of Food Research 43: 595-601.
4. Balakrishnan, N., and Subramanian, K. 2012. Mycorrhizal symbiosis and bioavailability of micronutrients in maize grain. Mydica Journal 57: 129-138.
5. Baojin, X., Sam, K., and Chang, C. 2009. Total Phenolic, Phenolic Acid, Anthocyanin, Flavan-3-ol, and Flavonol Profiles and Antioxidant properties of Pinto and Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. Journal of Agricultural Food Chemistry 57: 4754-4764.
6. Cakmak, I., Pfeiffer, W.H., and McClafferty, B. 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. Cereal Chemistry 87: 10-2.

7. Caldas, G.V., and Blair, M.W. 2009. Inheritance of condensed tannin content and relationship with seed color and pattern genes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Theoretical and Applied Genetics* 119: 131-142.
8. Campion, B., Raymond, P.G., Aldo, T., Domenico, P., Enrico, D., Francesc, S., Roberto, C., Valeria, D., and Erik, N. 2013. Genetic reduction of antinutrients in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed, increases nutrients and in vitro iron bioavailability without depressing main agronomic traits. *Field Crops Research* 141: 27-37.
9. Cárdenas, L.A., Leonel, J., Costa, M.B., and Reis, F.P. 2010. Zinc bioavailability in different bean as affected by cultivar type and cooking conditions. *Journal Food Research* 43: 573-581.
10. Chong, W.J., Xiu, X.H., and Shao, J.Z. 2007. The iron-deficiency induced phenolics accumulation may involve in regulation of Fe (III) chelate reductase. *Plant Signaling and Behavior* 2,5: 327-332.
11. Coelho, C.M.M., and Benedito, V.A. 2008. Seed development and reserve compound accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Science Biotechnology* 2: 42-52.
12. Erdal, I., Yilmaz, A., Taban, S., Eker, S., Torun, B., and Cakmak, I. 2002. Phytic acid and phosphorous concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. *Journal of Plant Nutrition* 25: 113-127.
13. Fageria, N.K., and Santos, A.B. 2008. Yield physiology of dry Bean. *Journal of Plant Nutrition* 31: 983-1004.
14. Gupta, P., Dhawan, K., Malhotra, S.P., and Singh, R. 2000. Purification and characterization of trypsin inhibitor from seeds of faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Acta Physiologiae Plantarum* 22: 433-438.
15. Hamouda, R., and Farfour, S. 2013. Enhancement the growth and phenolic content of faba bean (*Vicia faba* L.) by applying some biofertilizer agents. *Journal of Food Studies* 2(2): 20-30.
16. Haug, W., and Lantzsch, H. J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereal products. *Journal of Science Food Agriculture* 34: 1423-1426.
17. Hanan, A., Taie, A., El-Mergawi, R., and Radwan, S. 2008. Isoflavonoids, Flavonoids, Phenolic Acids Profiles and Antioxidant Activity of soybean seeds as affected by organic and bioorganic fertilization. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Science* 4: 207-213.
18. Heimler, D., Vignolini, Dini, P.M.G., and Romani, A. 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3053-3056.
19. Kaya, M., Küçükyumuk, Z., and Erdal, I. 2009. Phytase activity, phytic acid, zinc, phosphorus and protein contents in different chickpea genotypes in relation to nitrogen and zinc fertilization. *African Journal of Biotechnology* 8: 4508-4513.
20. Kakade, M.L., Rackis, J., McGhee, J.J.E., and Puski, G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy bean products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Journal of Cereal Chemistry* 51: 376-382.
21. Khattab, R.Y., and Arntfield, S.D. 2009. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *Journal of Food Science and Technology* 42: 1113-1118.
22. Luthria, D.L., and Pastor-Corrales, M.A. 2006. Phenolic acids profiles of beans commonly consumed in United States. *Bean Improvement Cooperative Annual Report* 49: 6-7.
23. Makkar, H.P.S., Bluemmel, M., Borowy, N.K., and Becker, K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61: 161-165.
24. Malakouti, M. J. 2011. Towards improving the quality of consumed breads in Iran: A Review, *Iranian Journal Food Science and Technology* 8(31): 11-22. (In Persian With English Summary).
25. Marschner, H., and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159: 89-102.
26. Mohammadi, M. 1986. Report of soil science of Chaharmahal-Va-Bakhtiari (Shahrekord and Brojen regions). *Soil and Water Research, Technical Publication* p.: 696 & 239.
27. Mohammadi, M., Malakouti, M.J., Khavazi, K., Rejali, F., and Davoodi, M.H. 2015. The effect of bio-fertilizer and chemical fertilizers (phosphate and zinc) on yield, nutrient concentration and phytic acid/zinc molar ratio of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Soil biology* 2(2): 99-110. (In Persian).
28. Motashare-Zadeh, B., and Savaghebi, Gh. R. 2012. The effect of balanced fertilization on nutrients, concentration and phytic acid to zinc molar ratio in Iranian red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars at different stages of seed development. *Iranian Journal of Science and Technology. Greenhouse Culture* 3(9): 73-84. (In Persian With English Summary).

29. Rejali, 2005. A brief review on mycorrhiza symbiosis: Part 1: Principales and practices. Agricultural Research and Education Organization. Soil and Water Research Institute. Technical Bulletin No.468, 35 Pages.
30. Ryan, M.H., McNerney, J.K., Record, I.R., and Angus, J.F. 2008. Zinc bioavailability in wheat grain in relation to phosphorus fertilizer, crop sequence and mycorrhizal fungi. *Journal of Science Food Agriculture* 88: 1208-1216.
31. Saharan, K., Khetarpaul, N., and Bishnoi, S. 2002. Antinutrients and protein digestibility of faba bean and rice bean as affected by soaking, dehulling and germination. *Journal of Food Science and Technology* 39: 418-422.
32. Sangronis, E., and Machado, C.J 2007. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *Journal of LWT* 40: 116-120
33. Sarathambalm, C., Thangaraju, M., Paulraj, C., and Gomathy, M. 2010. Assessing the Zinc solubilization ability of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in maize rhizosphere using 65 labelled Zn compounds. *Indian Journal of Microbiology* 50(1):103-109.
34. Shahab, S., and Ahmed, N. 2008. Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. *Africam Journal of Biotechnology* 7(10): 1543-1549.
35. Smith, S.E., and Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, Third Ed. Academic Press, London. UK.
36. Subramanian, K.S., Tenshia, V., Jayalakhshmi, K., and Ramachandran, V. 2009. Role of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*)-(fungus aided) in zinc nutrition of maize. *Journal of Agriculture Biotechnology Sustainable Development* 1: 029-038.
37. Takahashi, R., Ohmori, R., Kiyose, C., Momiyama, Y. Ohsuzu, F., and Kondo, K. 2005. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4578-4582.
38. Umeta, M., Clive, E.W., and Habtamu, F. 2005. Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia. *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 803-817.
39. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.
40. Welch, R.M. 2002. Breeding strategies for biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally. *Journal of Nutrition*.132: 495-499.
41. Xu, B.J., and Chang, S.K.C. 2008. Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. *Journal of Food Science* 73: 19 -27.

Improve the quality of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with using Phosphate and Zinc biofertilizers

Mohammadi^{1*}, M., Khavazi², K., Malakouti³, M.J. & Rejali⁴, F.

1. Assistant Professor, Department of Soil and Water Research, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center; Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran

2. Professor, Soil and Water Research Institute of Iran, kkhavazi@yahoo.com

3. Professor, Soil Fertility and Plant Nutrition, Tarbiat Modares University, mjmalkouti@hotmail.com

4. Associate Professor, Soil and Water Research Institute of Iran, frejali@yahoo.com

Received: 2 November 2015

Accepted: 23 February 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.50917

Introduction

Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the richest seeds in legumes. It has special importance in the diet because it contains 20-25 percent protein, 60 percent carbohydrates, vitamins, dietary fiber, antioxidants, trace minerals and amino acids containing Zinc (Zn) and Iron (Fe). Mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) such as *Azotobacter* spp., and *Pseudomonas* spp. are able to increase uptake of nutrient elements particularly when they are applied with others. P solubilizing fungus and bacteria facilitate uptake of slowly diffusing nutrient ions such as phosphorus (P), Zn, Fe and increase their availability usually by increasing volume of soil exploited by plants, spreading external mycelium, secreting organic acids, production of dehydrogenase and phosphates enzymes and reducing rhizosphere acidity. Despite the high nutritional value of bean, it contains some antinutritional factors that caused to decrease this nutritional value with reducing the digestion and absorption of protein, minerals and trace elements. The main is phytic acid (PA), phenolic acid, tannin and trypsin inhibitors. PA has the ability to form bonds with divalent cations such as Fe, Zn, calcium (Ca) and magnesium (Mg). The high chelating capacity of PA reduces strongly availability of these elements and causes disturbances in the human gastrointestinal system. PA, phenolic compounds, tannin, and trypsin inhibitors can form bond with protein, fiber, carbohydrates, polysaccharides and other macromolecules and hence reduce enzyme activities, absorption and digestion of proteins and minerals. The main objective of this farm study was to evaluate the effect of P and Zn bio-fertilizers on decrease of antinutritional factors and improve seed quality in two cultivars of bean in Chaharmahal-va- Bakhtiari province.

Material & Methods

This field experiment was carried out as a factorial based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The treatments of this research consisted of two cultivars of Chiti bean (Talash and Sadri), four levels of P (P₀: Control, P₁: Chemical fertilizer on the basis of soil test, P₂: 50 percent of recommended P + bio-fertilizer (P), and P₃: bio-fertilizer (P)), three levels of Zn (Zn₀: Control, Zn₁: 50 kg ha⁻¹ Zinc sulphate, and Zn₃: bio-fertilizer (Zn)). Bio-fertilizer (P) treatment consisted of using inoculum of P solubilizing bacteria from *Azotobacter chroococcum* strain 5 and three species of mycorrhizal fungi from *Glomus* species (*Glomus etunicatum*, *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*). Bio-fertilizer (Zn) treatment consisted of using inoculum of *Pseudomonas aeruginosa* strain MPFM and *Pseudomonas*

*Corresponding Author: m.mohamadi@areeo.ac.ir, Mobile: 09133822665

fluorescent strain 187. Grain inoculation (5%) was done in shadow and after drying, inoculated grains were immediately cultivated. Two g of mycorrhizal fungus was applied under the grain hole just prior to sowing. Chemical fertilizers were applied from TSP at a rate of 100 and 50 kg ha⁻¹ in P₁ and P₂ respectively, 50 kg ha⁻¹ ZnSO₄.7H₂O in Zn₁. After harvesting, seeds were prepared to measure antinutritional factors after grounding and passing from 60 mesh sieve. Phytic acid was measured by Haug and Lantzsch (1983), phenolic acid and Tannin by Makkar *et al.* (1993) and trypsin inhibitors by Kakade *et al.* (1974). Statistical analysis was done with SAS statistical software. Duncan's multiple range test was used to compare means.

Results & Discussion

The results revealed that there were not significant difference between two cultivars on studying factors. The least of these characteristics except of phytic acid (PA) were obtained from Sadri cultivar. The effect of P treatment was significant on studying parameters, in a way P₂ treatment in comparison with control treatment caused to decrease PA (11.5%), phenolic acid (35%), Tannin (38%) and trypsin inhibitors (25%). The effect of Zn treatment was also significant on studying parameters. The minimum of studying factors were obtained from Zn₁ and Zn₂ treatments. The effect of interaction between P and Zn was significant on these anti-nutritional factors except the trypsin inhibitors. The least rate of PA, phenolic acid, tannin were obtained 3.90 g kg⁻¹, 3.13 and 2.45 mg GAE g⁻¹ sample respectively from P₂Zn₁ and the rate of trypsin inhibitor 4.70 mg TI g⁻¹ sample from P₂Zn₂. In this study, the dual inoculation with phosphate and Zn bio-fertilizers caused to increase nutrient uptake and improve in seed enrichment especially nutrients with antioxidant capacity such as Zn and Fe. It can be done with increasing mycorrhizal symbiosis, root colonization phytosiderophores secretion, organic acids and chelated compounds production. Our results were similar to findings of other researches. Reducing in antinutritional factors related to production of enriched seeds with using phosphate and Zn bio-fertilizers.

Conclusion

The results of this research revealed that individual and dual using of phosphate and Zn bio-fertilizers caused to decrease antinutritional factors in two studied cultivars of bean. Microorganisms used in biological treatments caused to increase the availability and uptake of nutrient elements such as N, P, Fe and Zn. It can be done with increasing mycorrhizal symbiosis, root colonization and enhance secretion of siderophore compounds, organic acids and chelate compounds. Also, plant hormones and enzymes promoting growth increased with using of these bio treatments. Application of bio-fertilizers in this study caused to decrease antinutritional factors in both cultivars with increase of growth and nutrient uptake and seed bioenrichment with iron (Fe) and Zn. Seed bio-enrichment with Fe, Zn and other nutrients caused to indirectly decrease in PA and other antinutritional factors. In this research, the best treatment was using of mycorrhizal fungi with *Azotobacter* inoculant and 50 kg ha⁻¹ TSP and 50 kg ha⁻¹ ZnSO₄.7H₂O, (P₂Zn₁ treatment).

Key words: Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Mycorrhizal fungi, Phytic acid, Tannin, Zinc

اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر کلروفیل، عملکرد و اجزای عملکرد عدس (*Lens culinaris* Medik)

حسین نوری^{۱*}، پیام معاونی^۲ و میلاد سلطانی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، مسئول فنی مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد واحد شهر قدس

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد تاکستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

چکیده

یک ذره که حداقل ابعاد آن از ۱۰۰ نانومتر تجاوز نکند، به عنوان یک نانوذره شناخته می‌شود. نانوذرات با نسبت بالایی از سطح به حجم یا وزن، دارای تأثیر فیزیکی و شیمیایی زیادی هستند. نانو ذرات دارای کاربردهای زیادی در زندگی روزمره هستند. عدس یکی از محصولات عمده حبوبات در سراسر جهان از جمله ایران است. به منظور بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی صفات زراعی عدس، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۰ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل شش سطح محلول پاشی با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵) و دو زمان محلول پاشی (۶۰ درصد ساقه‌روی و ۵۰ درصد گلدهی) بود. نتایج نشان داد که اثر متقابل محلول پاشی غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی بر صفاتی مانند عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، ارتفاع بوته، تعداد غلاف پوک و کلروفیل b و شاخص برداشت معنی‌دار بود. تیمارهای شاهد دارای بیشترین میزان کلروفیل b در هر دو مرحله بودند و کمترین میزان کلروفیل b در تیمار ۰/۰۱ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی مشاهده شد. غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی، بیشترین ارتفاع بوته را داشت و غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۵ درصد محلول پاشی شده در مرحله ساقه‌روی کمترین تأثیر را روی ارتفاع گیاه عدس داشت. غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی دارای بیشترین عملکرد دانه بود؛ هرچند با تیمار ۰/۰۱ درصد محلول پاشی در همین مرحله اختلاف معنی‌داری نداشت. غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی دارای کمترین عملکرد دانه بود. بیشترین شاخص برداشت مربوط به تیمار با غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۵ درصد و محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی و کمترین شاخص برداشت مربوط به تیمار با غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۴ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی بود. وزن صد دانه در غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی دارای بیشترین میانگین بود و غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی کمترین وزن صد دانه را داشت. تیمار نانو ذرات تیتانیوم با مقادیر ۰/۰۵ درصد و ۰/۰۲ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a داشت. همچنین مصرف نانو ذرات تیتانیوم در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و ۶۰ درصد ساقه دهی به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a داشته است. نتایج این تحقیق نشان داد با این که تیمار نانو باعث افزایش در صفات کمی و کیفی گیاه زراعی عدس شد، ولی برای استفاده از نانوذرات توجه به جنبه‌های ایمنی زیست‌محیطی آن اهمیت خاصی دارد.

واژه‌های کلیدی: دی‌اکسید تیتانیوم، ساقه‌روی، عملکرد دانه، گلدهی

مقدمه

در ایران و بیشتر کشورهای جهان تعداد زیادی از مردم،

برای تأمین احتیاج پروتئینی خود از حبوباتی نظیر نخود، عدس، لوبیا، ماش استفاده می‌کنند (Soltani et al., 2001). ایران از نظر سطح زیر کشت عدس بعد از هند، ترکیه و کانادا رتبه چهارم جهان را به خود اختصاص داده است (Sabaghpour et al., 2004). عدس (*Lens culinaris* Medik) یکی از قابل

*نویسنده مسئول: زنجان، دانشگاه زنجان، مزرعه تحقیقاتی، تلفن همراه:

hossein_nouri2010@yahoo.com، ۰۹۱۲۷۴۴۰۹۰۲

فنولی در گیاه گل گاوزبان می‌شود. همچنین محققان گزارش داده‌اند نانو اکسید روی باعث افزایش معنی‌داری در رشد ریشه و ساقه گردیده است. عدس به واسطه داشتن عادت رشدی نامحدود گل زیادی در یک دوره طولانی می‌دهد. به این دلیل مشاهده همزمان گل، غلاف سبز و غلاف رسیده روی یک بوته یک امر غیرعادی نیست.

Moaveni et al, (2011b) گزارش کردند که تأثیر محلول پاشی نانوذرات تیتانیوم بر عملکرد دانه و تعداد سنبلک در گیاه جو معنی‌دار بود؛ اما در شاخص برداشت و وزن سنبلک معنی‌دار نبوده است. مقایسات میانگین نشان داده که بالاترین عملکرد دانه ۳/۳۹۰ تن در هکتار، وزن سنبلچه ۵/۸ در مترمربع و تعداد سنبلچه‌ها ۶۷۸/۵ در مترمربع با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در سطح ۰/۰۳ درصد به دست آمد؛ اما بالاترین شاخص برداشت ۲۷/۵ به دست آمد. تیمار اسفناج با ۰/۲۵ درصد نانو ذرات تیتانیوم باعث افزایش فتوسنتز شد؛ در نتیجه باعث افزایش سرعت رشد محصول و افزایش عملکرد می‌شود (Soltani et al., 2001). پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم روی برخی صفات کمی و کیفی گیاه عدس و دستیابی به عملکرد بالاتر صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان با عرض ۳۵ درجه و ۲۵ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی، طول ۴۷ درجه و یک دقیقه تا ۴۹ درجه و ۵۲ دقیقه شرقی، ارتفاع ۱۶۳۴ متر از سطح دریا، متوسط بارندگی حدود ۲۹۳/۵ میلی‌متر و با خاکی لوم رسی، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در پنج سطح (شاهد، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵ درصد) به عنوان عامل اصلی و در طی دو مرحله (۶۰ درصد ساقه‌روی در تاریخ ۱۳ و ۱۴ خردادماه و ۵۰ درصد گلدهی در تاریخ هشت تیرماه ۱۳۹۰) به عنوان عامل فرعی انجام شد. نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از شرکت نانوپارس لیما تهیه شد. بذور عدس مورد مطالعه رقم محلی زنجان بود. همچنین بر اساس نتایج آزمون خاک (جدول ۱)، به دلیل نیاز خاک به کود، قبل از کاشت مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود دی‌فسفات آمونیوم و کود سولفات پتاسیم (حاوی ۴۶ درصد پتاسیم و ۱۷ درصد گوگرد) به میزان ۱۲۱ کیلوگرم در هکتار به طور یکنواخت در زمین پخش شد. برای آماده‌سازی بستر کشت، ابتدا زمین مورد نظر در پاییز شخم زده شد. سه هفته قبل از کشت محل آزمایش با علف کش ترفلان به منظور مبارزه

هضم‌ترین حبوبات محسوب می‌شود که دارای منبع پروتئین با ارزش ۲۵ درصد است و کاه و کلش و پوسته غلاف آن دارای ارزش غذایی بالایی است که به مصرف دام می‌رسد (Majnoun Hosseini, 2008). عدس همچنین قادر است از طریق تثبیت نیتروژن، موجب بهبود حاصلخیزی خاک شود (Christiane et al., 2002). حبوبات با سطح زیر کشت ۷۷۰ هزار هکتار و تولید ۷۰۰ هزار تن پس از غلات دومین سطح زیر کشت را در کشور به خود اختصاص داده‌اند که نقش مهمی در تأمین پروتئین مورد نیاز کشور ایفا می‌کنند. کشت عدس در ایران در استان‌های خراسان شمالی و رضوی، اردبیل، کرمانشاه و آذربایجان در سطح وسیعی انجام می‌شود. سطح زیر کشت آن در سال ۱۳۹۲ بالغ بر ۱۵۵۰۰۰ هکتار و تولید آن ۸۰۰۰۰ هزار تن بوده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۲).

ورود فناوری‌ها به عرضه کشاورزی، در چند دهه گذشته منجر به وقوع انقلاب سبز و گذار از کشاورزی سنتی به کشاورزی صنعتی گردید. اکنون با گذشت سال‌ها از وقوع انقلاب سبز لزوم به کارگیری فناوری جدید در صنعت کشاورزی بیش از هر زمان دیگری آشکار است. در این بین فناوری نانو به عنوان یک فناوری بین‌رشته‌ای و پیش‌تاز رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه‌های علمی، به خوبی جایگاه خود را در علوم کشاورزی و صنایع وابسته آن به اثبات رسانده است (Reynolds, 2002). فناوری نانو، در زمینه‌های مختلفی مانند تشخیص سریع بیماری‌های گیاهی، شناسایی باقیمانده سموم در محصولات کشاورزی و حذف آن‌ها، انتقال هوشمند دارو، سموم و عناصر غذایی در دام، شیلات و گیاهان، تصفیه آب‌های روان، افزایش کیفیت فراورده‌های کشاورزی مرتبط با صنایع نساجی، مهندسی ژنتیک گیاهان و دام و افزایش میزان تولید محصول از طریق تولید حیوانات و گیاهان، افزایش مدت‌زمان انبارداری محصولات کشاورزی و موارد بسیاری نظیر آن می‌تواند نقش بسیار مؤثری را در بخش کشاورزی و منابع طبیعی ایفا کند (Khayyam Nekoei et al., 2009).

تاکنون مطالعات مختلفی بر روی محلول پاشی ذرات نانو از جمله AgO_2 ، FeO_2 ، ZnO_2 و ترکیب SiO_2 و TiO_2 (Lu et al., 2002) بر صفات کمی و کیفی گیاهان مختلفی از جمله سویا، گل گاوزبان، ماش و نخود انجام شده است. نتایج تحقیقات نشان دادند SiO_2 و TiO_2 فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز را در سویا و محلول پاشی TiO_2 عملکرد دانه را افزایش داد (Lu et al., 2002; Moaveni et al., 2011c). همچنین نانو ذرات آهن در غلظت ۰/۷۵ گرم در لیتر باعث افزایش سطح برگ، وزن غلاف و عملکرد گردید (Reynolds, 2002). Salehi (2008) گزارش کرد محلول پاشی نانو نیترات نقره سبب افزایش ترکیبات پلی

محلول نانو دی‌اکسید تیتانیوم جهت محلول پاشی در هر کرت ۱/۵ لیتر (که برای هر سطح شش لیتر) مصرف شد (شکل ۱). محلول پاشی در صبح زود قبل از طلوع آفتاب به کل عدس‌ها به ساقه و برگ‌های بالایی و برگ‌های پایینی انجام شد.

با بانک بذر علف‌های‌هرز موجود در خاک در فروردین‌ماه سم پاشی شد و سپس یک دیسک سطحی زده شد. عملیات کاشت در اواسط اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۰ انجام شد. برای تهیه غلظت‌های نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌میزان لازم از پودر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم توزین گردید و با آب مقطر به حجم رسانده و با دستگاه همزن به‌خوبی حل گردید که میزان

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 1. Soil characteristics of the site

پتاسیم K(mg kg ⁻¹)	فسفر P(mg kg ⁻¹)	نیتروژن (درصد) N (%)	شن (درصد) Sand (%)	سیلت (درصد) Silt (%)	رس (درصد) Clay (%)	اسیدته (pH)	ماده آلی (درصد) Organic carbon (%)
266	5.6	0.07	42	17	31	8.18	1.21

soil texture in the field: loamy clay

بافت خاک محل آزمایش: لومی رسی

ای دانکن و در سطح پنج درصد با نرم‌افزار MSTAT-C انجام گرفت و ترسیم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

نتایج بحث

کلروفیل a و b

با توجه به جدول تجزیه واریانس مشاهده شد که اثر متقابل مرحله رشدی و سطوح مختلف محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم معنی‌دار نبود (جدول ۲). تأثیر سطوح محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تیمار نانو ذرات تیتانیوم با مقادیر ۰/۰۵ درصد و ۰/۰۲ درصد به‌ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد داشته است (شکل ۲). تأثیر مرحله بر میزان کلروفیل a در سطح یک درصد نیز معنی‌دار بود (جدول ۲). در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و ۶۰ درصد ساقه‌دهی به‌ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a داشته است (شکل ۳).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل مرحله رشدی و سطوح مختلف محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای شاهد دارای بیشترین میزان کلروفیل b در هر دو مرحله بودند و کمترین میزان کلروفیل b در تیمار ۰/۰۱ درصد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی مشاهده شد. کلروفیل‌ها، مولکول‌های ضروری هستند که مسئول دریافت انرژی خورشیدی در سیستم‌های فتوسنتزی هستند (Tanaka and Tanaka, 2006).

کرت‌های آزمایشی به‌صورت جوی و پشته تهیه شدند که هر یک دارای شش خط کاشت، به طول چهار متر به فاصله ۵۰ سانتی‌متر از هم بودند و بذور به فاصله ۱۰ سانتی‌متر از هم روی پشته‌ها کشت شدند. مبارزه با علف‌های‌هرز به‌دلیل رشد مجدد برخی از گونه‌های علف‌هرز به‌صورت دستی و در دو مرحله انجام گرفت. برداشت محصول پس از رسیدگی فیزیولوژیک انجام گرفت و از هر کرت آزمایشی یک مترمربع به‌صورت تصادفی با رعایت حاشیه، برداشت گردید و صفات ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن ۱۰۰ دانه، عملکرد دانه (براساس ۱۴ درصد رطوبت)، عملکرد بیولوژیک و درصد شاخص برداشت محاسبه گردید.

برای تعیین میزان کلروفیل از روش ارائه‌شده توسط Meidner (1981) استفاده شد. برگ‌های بالایی گیاه برداشت شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس پنج گرم از هر نمونه برگ تر در پنج میلی‌لیتر استون هموژن گردید. عصاره به‌دست آمده صاف و حجم آن با اضافه کردن استون به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس میزان جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectrophotometer, Model: V-530, JASCO, Japan) و با طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر تعیین گردید. غلظت کلروفیل a و b به کمک فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Ashraf et al., 1994). در روابط فوق V حجم نهایی نمونه استخراج شده و W وزن تر نمونه است.

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{جذب در } 645 \text{ نانومتر} \\ \text{جذب در } 663 \text{ نانومتر} \end{array} \right\} \times \frac{V}{(1000 \times W)}$$

در ۶۶۳ نانومتر $\{ 12/7 = \text{میلی گرم کلروفیل a در هر گرم وزن تر} \}$

در ۶۴۵ نانومتر $\{ 22/9 = \text{میلی گرم کلروفیل b در هر گرم وزن تر} \}$

تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. همچنین مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه

جدول ۲- مشخصات نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم مصرف شده
Table 2. Characteristic nanoparticle TiO₂ for studied

کشور تولید کننده Producing country	وزن خالص Net weight	محدوده سطح مخصوص نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم Special range of parameters titanium dioxide nanoparticles	میانگین اندازه نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم Titanium dioxide nanoparticles size	ظاهر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم Appearance of titanium dioxide nanoparticles	درصد خلوص Percent Purity
آلمان (Germany)	50 g	> 50 m ² g	21 nm	پودر سفید (White powder)	99.5%



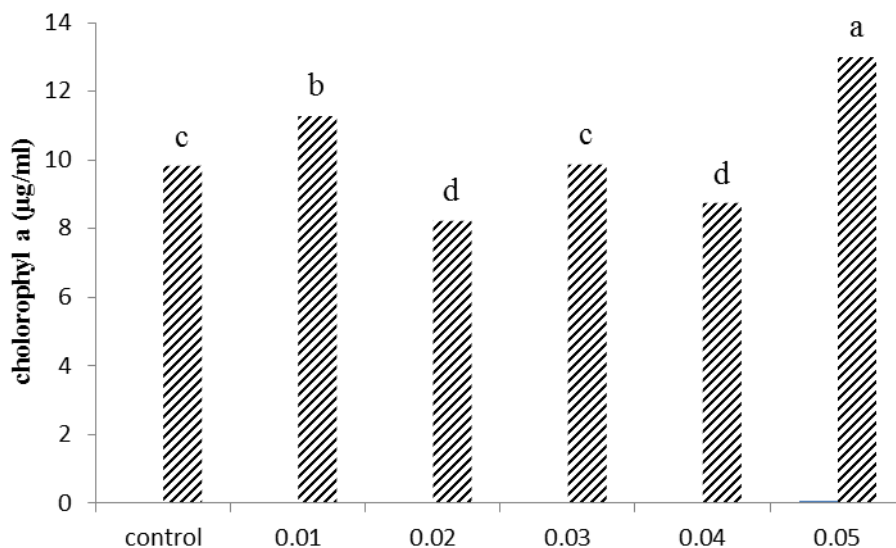
شکل ۱- نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم مصرف شده
Fig. 1. Nanoparticle TiO₂ for studied

(1997) Sairam *et al*, اظهار داشتند که تحت تنش خشکی و گرما محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد.

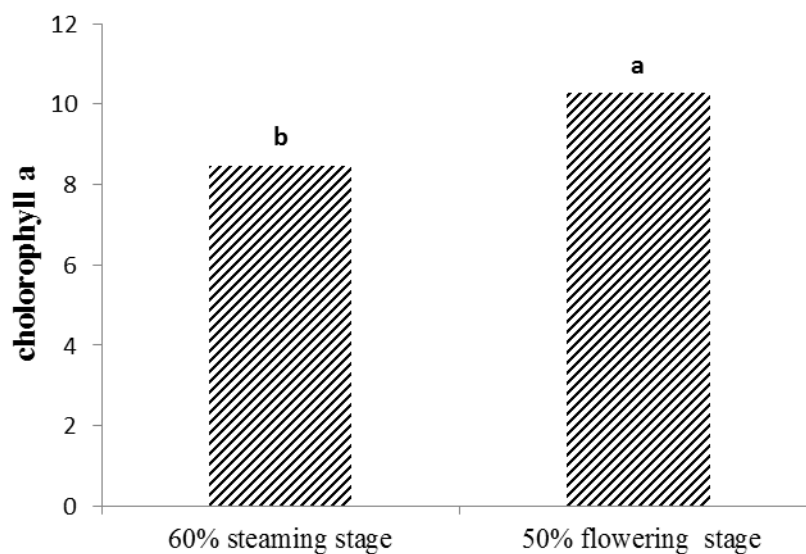
ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل بین غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). براساس نتایج مقایسات میانگین، غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه روی، بیشترین ارتفاع بوته را داشت و غلظت نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم ۰/۰۵ درصد محلول پاشی شده در مرحله ساقه روی کمترین تأثیر را روی ارتفاع گیاه عدس داشت (جدول ۳). این نتایج با نتایج Moaveni *et al*, (2011a) مطابقت داشت. این محققان بیان کردند ارتفاع بوته گندم در پاسخ به تیمارهای مختلف نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم افزایش یافت.

غلظت کلروفیل به عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (Herzog, 1986) و لذا کاهش در آن در شرایط تنش‌های محیطی می‌تواند به عنوان یک عامل محدود کننده غیرروشنه‌ای به حساب آید. Schutzz & Fangmeier, (2001) گزارش کردند که کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی به علت تجزیه آن است. (Ashraf *et al*, 1994) کاهش غلظت کلروفیل را در شرایط تنش خشکی به اثر فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نهایت تجزیه کلروفیل نسبت دادند. البته گزارشاتی نیز مبنی بر عدم تأثیر تنش خشکی بر غلظت کلروفیل و یا عدم تفاوت بین ارقام مقاوم و حساس گندم از لحاظ واکنش به تنش خشکی وجود دارد (Klushreshtha *et al*, 1987). شاید یکی از دلایل تفاوتی که در نتایج مشاهده می‌شود، اختلاف در شرایط اجرای آزمایش و شدت و مدت تنش باشد (Jagtap *et al*, 1998).



شکل ۲- اثر غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر صفت کلروفیل a در گیاه عدس
Fig. 2. Effect of nanoparticle TiO₂ and times of spray on chlorophyll a in lentil



شکل ۳- اثر زمان محلول پاشی بر میزان کلروفیل a در دو مرحله رشدی در گیاه عدس
Fig. 3. Effect of times of spray on chlorophyll a in lentil

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی روی صفت عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارهای اثر متقابل نشان داد که غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در

مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی دارای بیشترین عملکرد دانه بود؛ هرچند با تیمار ۰/۰۱ درصد محلول پاشی در همین مرحله اختلاف معنی‌داری نداشت. غلظت نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی دارای کمترین عملکرد دانه بود (جدول ۲). این نتایج نشان می‌دهد احتمالاً با کاربرد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم رشد گیاه تحت تأثیر

مطابقت داشت. این محققان بیان کردند محلول پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش عملکرد دانه در گیاه جو شد.

نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفته و شاخص سطح برگ و فتوسنتز گیاه افزایش یافته و در نهایت موجب افزایش عملکرد شده است. این یافته‌ها با نتایج (Moaveni et al, (2011b

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه اثر کود و مرحله رشدی

Table 1. Analysis of variance for studied traits effect of nanoparticle TiO₂ and times of spraying

منابع تغییرات Source of variance	درجه ازادی Df	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت HI	تعداد غلاف در بوته Pods/plant	تعداد دانه در غلاف seed/pods	وزن صد دانه 100 seed weight	ارتفاع بوته Plant height	تعداد غلاف پوک Number of hollow pods	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b
تکرار Replication (A)	3	0.46ns	5.35**	10.08ns	7.94**	0.025*	0.093ns	16.96ns	60.8ns	3.15ns	0.44ns
غلظت Concentration (A)	5	77.31**	572.05**	3.40ns	23.75**	0.079**	0.096ns	48.86**	215*	30.88**	1.1**
مرحله رشدی (B)	1	1153.46**	8399.72**	2.28ns	114.08**	0.005ns	0.48**	56.33**	2847.5**	59.82**	0.29ns
تفاعل Interaction (A×B)	1	166.67**	1275.9**	10.65*	13.03**	0.06**	0.285**	47.86**	380.7**	3.85ns	2.25**
خطا Error	33	1.56	7.53	4.36	2.82	0.008	0.043	8.58	29.2	0.54	0.10
ضریب تغییرات CV%		13.27	10.68	5.68	21.68	13.54	13.19	15.06	18.3	7.22	19.78

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد و ns غیر معنی‌داری را نشان می‌دهد.

* and **: significant at 0.01 and 0.05 probability level, respectively, ns: No significant

عملکرد بیولوژیک

عملکرد بیولوژیک یکی از شاخصه‌هایی است که با در نظر گرفتن آن می‌توان اثر عوامل محیطی بر عملکرد گیاهان زراعی را مورد بررسی قرار داد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی بر صفت عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد در صفت عملکرد بیولوژیک غلظت‌های نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی بیشترین عملکرد بیولوژیک و غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۲ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی کمترین عملکرد بیولوژیک را داشته‌اند (جدول ۳). عملکرد دانه بسیاری از گیاهان رابطه بسیار نزدیک با تولید کل زیست توده در مقایسه با شاخص برداشت دارد (Abid et al., 2004). کاهش مواد فتوسنتزی از جمله عواملی است که تولید زیست توده را به سبب جلوگیری از رشد گیاه، محدود می‌کند (Sandor et al., 2006). Moaveni et al, (2011b) نشان دادند اثر نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر روی عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود

و بیشترین میانگین (۲۱۴۸۱/۴ تن در هکتار) برای عملکرد بیولوژیک را برای نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و کمترین میانگین را برای شاهد (۱۷۷۸۲/۴ تن در هکتار) گزارش کردند.

شاخص برداشت

شاخص برداشت یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی است که بیانگر درصد انتقال مواد فتوسنتزی از اندام‌های رویشی گیاه به دانه‌هاست. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی روی صفت شاخص برداشت در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد بیشترین شاخص برداشت مربوط به تیمار با غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۵ درصد و محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی و کمترین شاخص برداشت مربوط به تیمار با غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۴ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی بود (جدول ۳). به نظر می‌رسد محلول پاشی در مرحله ساقه‌روی باعث افزایش رشد رویشی شده است که سبب بهبود پتانسیل تولید برای اندام‌های زایشی و در نتیجه باعث افزایش

عملکرد دانه می‌شود. در بعضی تیمارهای کودی به‌علت طولانی شدن فصل رشد گیاه مدت استفاده از منابع محیطی نظیر انرژی خورشیدی و مواد غذایی خاک افزایش یافته، زیست‌توده گیاه افزایش می‌یابد و بر مقدار مواد فتوسنتزی افزوده می‌شود و به دلیل مناسب بودن شرایط تعداد پرایموردیای گل و غلاف بیشتر می‌شود و تسهیم مواد فتوسنتزی به نحو مطلوب باعث افزایش عملکرد دانه و شاخص برداشت می‌شود. (Zecevic & Knezevic, 2005) بیان کردند که صفت شاخص برداشت توسط عوامل ژنتیکی و محیطی کنترل می‌شود، اما نقش عوامل ژنتیکی در کنترل این صفت به مراتب بیشتر است.

تعداد غلاف در بوته

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی روی تعداد غلاف در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد حداکثر تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمار با غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی بود (جدول ۳). نظر به این که تعداد غلاف در بوته در عدس قبل از گرده‌افشانی یا همزمان با آن صورت می‌گیرد، می‌توان گفت محلول پاشی با نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی باعث ایجاد شرایط مطلوب‌تری برای گیاه شده، لذا باعث افزایش تعداد غلاف در بوته می‌شود در نتیجه باعث افزایش عملکرد می‌شود. حداقل میانگین مربوط به تیمار با غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۴ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی بود (جدول ۳). گلدهی یکی از حساس‌ترین مراحل رشدی گیاه محسوب می‌شود. در اثر مصرف غلظت زیاد نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله گلدهی احتمالاً تعداد گره کاهش و سقط جنین افزایش می‌یابد که در نهایت باعث کاهش تعداد غلاف در بوته‌ها می‌شود. (Kumudini, 2002) گزارش نمود که ظاهراً گیاهان دارای مکانیزم‌هایی هستند که اندازه مخزن را بر اساس میزان آسیمیلات‌های موجود تنظیم می‌کنند. بنابراین تحت شرایط تنش فتوسنتز و نهایتاً مواد فتوسنتزی کاهش می‌یابد و گیاه با ریزش گل‌ها و غلاف‌های خود اندازه مخزن را کاهش می‌دهد، در نتیجه این امر خود سبب کاهش عملکرد دانه می‌شود.

تعداد دانه در غلاف

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی روی تعداد دانه در غلاف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار

بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تعداد دانه در غلاف به‌وسیله غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی، به‌طور معنی‌داری نسبت به بقیه تیمارها افزایش یافت و غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۴ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌دهی کمترین میانگین را از خود نشان داد (جدول ۳). احتمالاً محلول پاشی با مقدار مناسب نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مرحله ساقه‌روی منجر به افزایش طول دوره زایشی می‌شود. (Oweis et al., 2004) نیز گزارش کردند با افزایش طول دوره زایشی، تعداد دانه در غلاف افزایش می‌یابد. با وجود این برخی محققان معتقدند که صفت تعداد دانه در غلاف بیشتر تحت تأثیر عوامل وراثتی است و عوامل محیطی نقش کمتری در این صفت دارند (Mckenzie & Hill, 1995). همان‌طور که مشاهده می‌شود، تیماری که دارای بیشترین تعداد دانه در غلاف است، بیشترین عملکرد دانه را نیز دارد. در این خصوص (Pilbeam et al., 1991) نیز بیان داشتند که تعداد دانه در غلاف همبستگی قوی و ثابتی با عملکرد دارد و عامل تعیین کننده مهمی در عملکرد است.

وزن صد دانه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم × مرحله رشدی روی صفت وزن ۱۰۰ دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد وزن صد دانه در غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌روی دارای بیشترین میانگین بود و غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۱ درصد محلول پاشی شده در مرحله گلدهی کمترین وزن صد دانه را داشت (جدول ۳). نتایج این تحقیق با نتایج (Moaveni et al., 2011a) مطابقت داشت. (Moaveni et al., 2011a) گزارش کردند که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش معنی‌داری در وزن هزاردانه در گندم شد.

تعداد غلاف پوک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل مرحله رشدی و غلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر تعداد غلاف پوک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری تحت تأثیر سطوح مختلف نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی

Table 3. Mean comparisons of traits measured of effect of nanoparticle TiO_2 and times of spraying

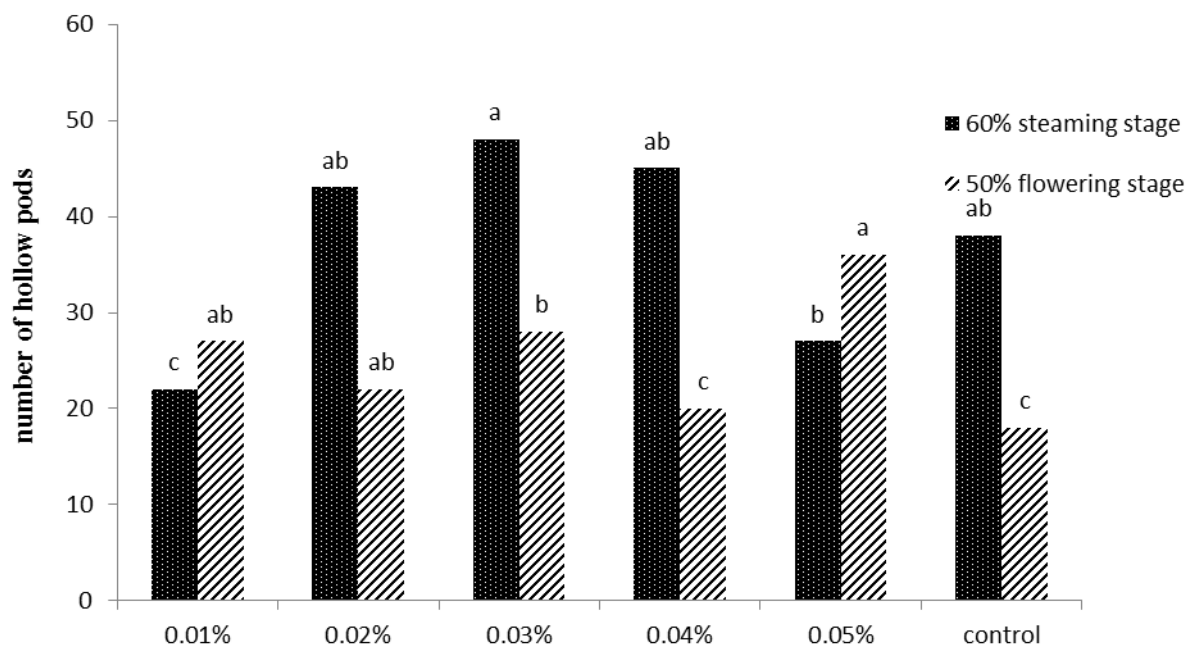
مرحله رشدی Growth stages	تیمار نانو تیتانیوم (%) TiO_2	عملکرد دانه Seed yield (g b ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (g b ⁻¹)	شاخص برداشت HI (%)	تعداد غلاف در بوته Pods plant ⁻¹	تعداد دانه در غلاف Seed pods ⁻¹	وزن ۱۰۰ دانه (g) 100 seed weight (g)	ارتفاع بوته (cm) Plant height	کلروفیل b ($\mu\text{g ml}^{-1}$) Chlorophyll b ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
۶۰ درصد ساقه‌دهی 60% steaming stage	شاهد (Control) 0.01 0.02 0.03 0.04 0.05	5.3def 21.48a 23.10a 18.17b 11c 6.875de	14.29fg 56.01b 65.15a 48.77c 31.72d 17.57ef	37.24abc 38.28ab 35.58bc 37.28abc 34.60c 38.94a	4.75c 11.75a 9.00ab 10.75a 11.00a 8.5ab	0.8525ab 0.9a 0.5575c 0.5625c 0.5450c 0.5825c	15.75bc 21.75a 16.50bc 13.25c 15.25bc 18.28ab	16.75cd 28.25a 18.88cd 24.05ab 19.60cd 15.68d	3.8a 0.83c 1.6ab 2.52a 2.2a 1.4ab
۵۰ درصد گلدهی 50% flowering stage	شاهد (Control) 0.01 0.02 0.03 0.04 0.05	5.3def 3.3f 2.625f 3.95f 4.57ef 7.35d	14.29fg 9.033gh 7.035h 11.13gh 12.31fgh 20.98e	37.24abc 36.92abc 37.36abc 35.68bc 36.97abc 35.11c	4.75c 6.00bc 6.00bc 9.00ab 4.5c 7.00bc	0.8525ab 0.5775c 0.6650bc 0.6825bc 0.67bc 0.67bc	15.75bc 13.25c 14.00bc 15.75bc 15.00bc 15.00bc	16.75cd 17.20cd 19.25cd 20.00bc 18.50cd 18.50cd	2.92a 1.47b 1.12ab 1.4ab 1b 2.62a

میانگین‌هایی که در هر ستون، حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

*Values with different letters indicate significant differences at $P < 0.05$

مشاهده شد (شکل ۴). وجود درصد دانه پوک زیاد نسبتاً بالا در برخی تیمارها نشان‌دهنده این مطلب است که مواد فتوسنتزی و میزان مواد پرورده برای اختصاص به دانه‌ها کافی نبود. به عبارت دیگر به‌علت کمبود کود، تمام مقاصد پر نشده‌اند.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین تعداد غلاف پوک در تیمار محلول پاشی درغلظت نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم ۰/۰۳ درصد در مرحله ۶۰ درصد ساقه‌دهی مشاهده شد. کمترین تعداد غلاف پوک در تیمار شاهد در مرحله گلدهی



شکل ۴- اثرات متقابل نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و مرحله رشدی در تعداد غلاف پوک در عدس

Fig. 4. Effect of nanoparticle TiO_2 and times of spray interaction in number pod hollow in lentil

نتایج این تحقیق نشان داد با این‌که تیمار نانو باعث افزایش در صفات کمی و کیفی گیاه زراعی عدس شد، ولی برای استفاده از نانوذرات توجه به جنبه‌های ایمنی زیست محیطی آن اهمیت خاصی دارد. لذا با گسترش استفاده از ذرات نانو در زمینه‌های مختلف، توجه به تأثیرات سوء بیشتر می‌شود.

منابع

1. Abid, H., Chadhary, M.R., Wajid, A., Ahmad, A., Ibrahim, M.R.M., and Goheer, A. R. 2004. Influence of water stress on growth, yield and radiation use efficiency of various wheat cultivars. *International Journal Agriculture Biology* 6(6): 1074-1079.
2. Ashraf, M., Azim, Y.A.R., Khan, A.H., and Ala, S. A. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiologia Plantarum* 16: 185-191.
3. Chirstianse, I., and Graham, P.H. 2002. Variation in di-nitrogen fixation among Andean bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes grown at low and high levels phosphorus supply. *Field Crops Research* 73: 133-143.
4. Herzog, H. 1986. Source and sink during the reproductive period of wheat. Scientific publishers, Berlin and Hamburg.
5. Jagtap, V., Bhargara, S., Streb, P., and Feierabend, J. 1998. Comparative effect of water, heat and light stress on photosynthetic reaction in *Sorghum biocolor* (L.) Moench. *Journal Expend Botany* 49: 1715-1721.
6. Khayyam Nekoei, S., Sharifnasab, M., Ahmadi, H., Barkhivar, K., and Momeni, M. 2009. A review of nanotech in agricultural-Jehad ministry. Second Edition. Publication of Agricultural Education 23: 45-49 (In Persian).
7. Klushreshtha, S., Mishra, D.P., and Gupta, R.K. 1987. Changes in contents of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplasts and chloroplast membrane fraction at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat. *Photosynthet* 21: 65-70.
8. Kumudini, S. 2002. Trials and tribulations. A review of the role of assimilate supply in soybean genetics yield improvement. *Field Crop Research* 75: 211-222.
9. Lu C.M., Zhang C.Y., Wu J.Q., and Tao, M.X. 2002. Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of Glycine max and its mechanism, *Soybean Science* 21: 168-172.
10. Majnoun Hosseini, N., 2008. Grain Legume Production. Jahad Daneshgahi of Tehran University. Tehran, 283p. (In Persian).
11. Mckenzie B.A., and Hill, G.D. 1995. Growth and yield of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 23: 467- 474.
12. Meidner, H. 1981. Class Experiments in Plant Physiology. British Library Catalogaig in Publication Data. London.
13. Moaveni, P., Aliabadi Farahani, H., and Maroufi, K., 2011a. Effect of Tio2 nanoparticles spraying on wheat (*Triticum Aestivum* L.) under field condition. *Advances in Environmental Biology* 5(8): 2208-2210.
14. Moaveni, P., Talebi, R., Farahani, H.A., and Maroufi., K. 2011b. Study of TiO2 nano particles spraying effect on the some physiological parameters in Barley (*Hordem Vulgare* L.). *Advances in Environmental Biology* 5(7): 1663-1667.
15. Moaveni, P., Valadabadi, S.A., Aliabadi Farahani, H., and Maroufi, K., 2011c. Nanoparticles TiO2 spraying affected on Calendula (*Calendula Officinalis* L.) under field condition. *Advances in Environmental Biology* 5(8): 2242-2244.
16. Oweis T., Hachum A., and Pala, M. 2004. Lentil production under supplemental irrigation in a Mediterranean environment. *Agricultural Water Management* 68: 251-265.
17. Pilbeam, C.J., Hebblewait, P.D., Rickett, H.E., and Nyongesa, T.E. 1991. Effect of plant population density on determinate and indeterminate forms of winter field bean (*Vicia faba*). Part 1: yield and yield components. *Journal Agriculture Science* 116: 373-383.
18. Reynolds, G.H. 2002. Forward to the future nanotechnology and regulatory policy. *Pacific Research Institute* 1-23.
19. Sabaghpour, S., Safikhani, H., Sarker, M., Ghaffari, A., and Ketata, A. H., 2004. Present status and future prospects of lentil cultivation in Iran. P, 146, Proceeding of 5th European Conference on Grain. 7-11 June, Dijon, France.

20. Sairam, P.K., Deshmukh, P.S., and Shukla, D.S. 1997. Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Journal Agronomy Crop Science* 178: 171-178.
21. Salehi, M. 2008. Pretreatment effect of nanosilver on germination and seedling growth of wheat under salt stress. *Proceeding of First Iranian Congress in Seed Sciences and Technology*. Gorgan, Iran. 358 p.
- Yazdi Sammadi, B. 2008. Waste reduction in wheat production and consumption. *Proceeding of 10th Iranian Cong. of Crop Sciences*. Karaj, Iran. 519 p.
22. Sandor, D., Istvan, M., Judit, P., Agota, C., Réka, T., and Marta, M. 2006. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in *Aegilops* species originating from dry habitats. *Acta Biologica Szegediensis* 50(1-2): 11-17.
23. Schutzz, M., and Fangmeier, A. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. CV. Minaret). *Pollution* 114: 187- 189.
24. Soltani, A., Khoie, F.R., Ghassemi, K., and Moghaddam, M. 2001. A simulation study of chickpea crop response to limited irrigation in semi-arid environments. *Agricultural Water Management* 49: 225-237.
25. Tanaka, A., and Tanaka, R. 2006. Chlorophyll metabolism. *Plant Biology* 9: 248- 255.
26. Zecevic, V., and Knezevic, D. 2005. Variability and components of variance for harvest index in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Genetica* 37: 173-179.

Study of nano particle TiO₂ spraying on chlorophyll, yield and yield components of lentil (*Lens culinaris Medik*)

Nouri^{1*}, H., Moaveni², P. & Soltaanieh³, M.

1. M.Sc. alumnus, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Islamic Azad University, Shahr-e-Qods Branch, Tehran, Iran

3. MSc. alumnus in Agronomy, Islamic Azad University, Takestan Branch, Iran

Received: 13 September 2013

Accepted: 29 February 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.25752

Introduction

A particle in which at least one of the dimensions does not exceed 100 nm is classified as a nanoparticle. Nanoparticles are characterized by high ratio of surface area to volume or weight, what strongly influences physical and chemical properties of Nano sized materials. Nano products find applications in many fields of daily life. Lentil is one of the major legumes crops in all over the world including Iran. It is a cheap source of high quality protein in the diets of millions in developing countries, who cannot afford animal protein for balanced nutrition and also rich in important vitamins, minerals, soluble and insoluble dietary fiber.

Material & Methods

To study the effect of nanoparticle Tio₂ spray on some agronomic traits of lentil, a factorial experiment was carried out based on RCBD with four replications in Zanjan University on 2011. Treatments included six levels of nanoparticle Tio₂ solution spray (control, 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04% and 0.05%) and two times of spraying (flowering and 60% steaming stage).

Results & Discussion

Results showed spray concentration × application time interaction on grain and biological yield, number of pod per plant, number of grain per pod, 100 grain weight, plant height, number pod hollow and chlorophyll b and harvest index was significant. But spray concentration × application time interaction on chlorophyll a was not significant. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of chlorophyll b was obtained with applying 0.01% nanoparticle Tio₂ solution at both stage and the lowest obtained with applying 0.01% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of plant height was obtained with applying 0.01% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage and the lowest obtained with applying 0.05% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of grain yield was obtained with applying 0.02% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage. However, with applying 0.01% nanoparticle Tio₂ this stage there were not significant and the lowest obtained with applying 0.02% nanoparticle Tio₂ solution at flowering stage. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of biological yield was obtained with applying 0.02% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage and the lowest was obtained with applying 0.02% nanoparticle Tio₂ solution at flowering stage. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of harvest index was obtained with applying 0.05% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage and the lowest was obtained with applying 0.04% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of pod per plant was obtained with applying 0.01% nanoparticle Tio₂ solution at 60% steaming stage

*Corresponding Author: hossein_nouri2010@yahoo.com, Mobile: 09127440902

and the lowest was obtained with applying 0.04% nanoparticle Tio2 solution at flowering stage. The result of mean comparison showed that the highest amount of number of grain per pod was related with applying 0.01% nanoparticle Tio2 solution at 60% steaming stage and the lowest was related with applying 0.04% nanoparticle Tio2 solution at 60% steaming stage. Mean comparison of the traits showed that the highest amount of 100 grain weight was obtained with applying 0.01% nanoparticle Tio2 solution at 60% steaming stage and the lowest was obtained with applying 0.04% nanoparticle Tio2 solution at flowering stage. As well as, the results showed the effect of spray of titanium dioxide nanoparticles and spraying time on chlorophyll a was significant ($P \leq 0.01$). Mean comparison of the traits showed that the highest amount chlorophyll a were obtained with applying 0.05% nanoparticle Tio2, the highest amount chlorophyll a were obtained with applying 0.02% nanoparticle Tio2. The spray of nanoparticles titanium at 50% flowering and steaming stage (60%) was the highest and lowest impact on the amount of chlorophyll a.

Conclusion

According to the results of this study, it is concluded that spray with nanoparticles increased quantity and quality of lentil. But, the use of nanoparticles according to the aspect of environmental safety is very important.

Key words: Flowering, Grain yield, Steaming, TiO_2

بررسی صفات و تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت شرایط نرمال و تنش خشکی

فاطمه قراجه‌داغی^۱، محمدرضا بی‌همتا^{۲*}، سیدعلی پیغمبری^۲ و مریم رضایی‌نیا^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه تهران

۲- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۵

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین تنوع فنوتیپی و رابطه عملکرد دانه در بوته با سایر صفات مورد بررسی تحت تنش خشکی آزمایشی با ۳۵ ژنوتیپ لوبیا در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار تحت دو شرایط نرمال و تنش خشکی در مزرعه آموزشی-پژوهشی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا گردید. نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود داشت که دال بر وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بود. با توجه به نتایج حاصل از همبستگی‌های فنوتیپی، رگرسیون مرحله‌ای، تجزیه علیت در هر دو شرایط نرمال و تنش، صفات وزن دانه با غلاف، عملکرد بیولوژیک، تعداد دانه در غلاف، تعداد دانه در بوته، از جمله صفات مهم و تأثیرگذار بر عملکرد دانه بودند و می‌توان با گزینش و به‌نژادی برای این صفات، عملکرد دانه در بوته را به نحو مطلوبی افزایش داد. بر اساس تجزیه به عامل‌ها در هر دو شرایط پنج عامل شناسایی شدند که در مجموع تحت شرایط نرمال ۸۳/۷۶ و تحت شرایط تنش ۷۹/۰۸ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. در ارزیابی تحمل به خشکی شاخص‌های میانگین بهره‌وری، میانگین هندسی بهره‌وری، میانگین هارمونیک بهره‌وری و شاخص تحمل به تنش که بیشترین همبستگی معنی‌دار را با عملکرد در شرایط نرمال و تنش داشتند، به‌عنوان شاخص‌های برتر برای غربال ژنوتیپ‌های متحمل معرفی شدند. بر اساس نمودار بای‌پلات ترسیم‌شده با استفاده از نه شاخص تحمل به خشکی و عملکرد در شرایط نرمال و تنش، ژنوتیپ‌های ۲۵، ۲۷ و ۲۸ به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل با عملکرد بالا و ژنوتیپ‌های ۷، ۱۰، ۲۲ و ۲۳ به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس به خشکی معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه به عامل‌ها، تجزیه کلاستر، شاخص‌های تحمل، لوبیا

مقدمه

غلات نه تنها از نظر کمی مقادیر زیادی پروتئین دارد، بلکه پروتئین آن از نظر کیفی نیز بسیار غنی است. میزان تولید و عملکرد گیاهان تحت تأثیر روابط پیچیده بین گیاه و محیط قرار می‌گیرد. وضعیت آب یکی از اصلی‌ترین عوامل توزیع گونه‌های گیاهی در مناطق مختلف جغرافیایی است. در کشاورزی، خشکی، فقدان رطوبت مورد نیاز برای رشد و توسعه طبیعی گیاه به منظور تکمیل چرخه زندگی تعریف می‌شود (Manivannan et al., 2008). حدود دو سوم زمین‌های زیرکشت ایران در مناطق نیمه‌خشک قرار دارند، لذا تهیه ارقام با مقاومت به تنش خشکی یکی از مهم‌ترین اهداف برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (Ebrahimi et al., 2011). منابع ژنتیکی گیاهی علاوه بر نقش زیربنایی برای توسعه کشاورزی، به‌عنوان منبعی از ژن‌های مفید برای مقاومت به تنش‌های زنده و

حبوبات با داشتن ۳۲-۱۸ درصد پروتئین، پس از غلات مهم‌ترین منبع تأمین غذای بشر است. در ایران، ارزش غذایی حبوبات پس از گندم و برنج در مقام سوم اهمیت قرار دارد (Majnoun Hoseini, 2008). این گیاهان با تثبیت زیستی نیتروژن در بهبود حاصلخیزی خاک مؤثر بوده و نقش مهمی در پایداری نظام‌های کشاورزی ایفا می‌نمایند (Sharma & Jodha, 1984). لوبیا ۵۰ درصد حبوبات مورد استفاده در جهان را به خود اختصاص داده است (Mc clean et al., 2004). دانه لوبیا از نظر پروتئین و کربوهیدرات غنی می‌باشد. لوبیا نسبت به

*نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۲۱۵۹۴۳۳۸، mrghanad@ut.ac.ir

شاخص‌های برتر برای غربال ژنوتیپ‌ها معرفی شده‌اند (Khaghani et al., 2009; Ebrahimi et al., 2011; Shafiee et al., 2012).

این تحقیق به منظور بررسی و شناسایی تنوع ژنتیکی روابط بین صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های لوبیا مورد آزمایش در شرایط تنش خشکی و انتخاب بهترین ژنوتیپ‌ها بر اساس شاخص‌های تحمل صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط نرمال و تنش خشکی در مزرعه آموزشی و پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در دولت‌آباد کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۱۲ متر از سطح دریا در سال زراعی ۱۳۹۲ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۳۳ ژنوتیپ لوبیا معمولی به همراه سه رقم شاهد خمین، دانشکده و گلی (جدول ۱) انتخاب شده از کلکسیون حبوبات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران-کرج بود. براساس داده‌های ۳۰ ساله، میانگین بارندگی سالیانه محل اجرای آزمایش ۲۴۳ میلی‌متر و میزان کل بارندگی در طول فصل رشد برابر ۴۷/۷ میلی‌متر بود.

عملیات تهیه زمین در پاییز ۱۳۹۱ آغاز و قبل از کشت آماده‌سازی زمین با یک شخم بهاره (دیسک) انجام شد. کاشت بذور به صورت دستی انجام گرفت. هر کرت آزمایشی شامل سه ردیف به طول دو متر و با فاصله خطوط ۵۰ سانتی‌متری و فاصله روی خطوط ۱۰ سانتی‌متر و عمق کاشت بذر حدود پنج سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای مبارزه با علف‌های هرز در مرحله داشت وجین دستی صورت گرفت. آبیاری در هر دو شرایط تا مرحله گلدهی به صورت یکسان و هفت‌روز یکبار (معادل ۷۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) صورت می‌گرفت پس از رشد رویشی کافی و از بین رفتن خطر حذف بوته‌ها، با آغاز گلدهی آبیاری قطعه تنش ۱۱ روز یکبار (معادل ۱۱۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) انجام شد.

برداشت زمانی که حدود ۹۰ درصد بوته‌ها رسیده بودند انجام و تعداد هفت بوته با رعایت اثر حاشیه از هر کرت جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر نمونه‌برداری شد. صفات مورد بررسی شامل: تعداد روز تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی، تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز تا ۵۰ درصد رسیدگی، ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، قطر ساقه (میلی‌متر)، عملکرد بیولوژیک بوته (گرم)، عملکرد دانه بوته (گرم)، تعداد غلاف در بوته، وزن دانه با غلاف در بوته (گرم)، تعداد دانه

غیرزنده و گسترش سازگاری ژنتیکی در برابر تغییرات محیطی به حساب می‌آیند که در صورت بهره‌برداری صحیح از آن‌ها واریته‌های جدید و مطلوب‌تر گیاهی را می‌توان تولید کرد (Amini et al., 2002). انتخاب ژنوتیپ‌های دارای صفات مطلوب نیازمند تنوع می‌باشد. معیارهای تخمین تنوع ژنتیکی شامل نشانگرهای مورفولوژیکی و ژنتیکی بوده و اصلاح‌گران معمولاً از صفات مورفولوژیکی به عنوان معیارهای گزینش جهت بهبود عملکرد استفاده می‌نمایند (Upadhyaya et al., 2001).

عملکرد لوبیا صفتی کمی و پیچیده است که اجزای آن تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن دانه می‌باشد (Adams, 1982; Bennett et al., 1997). بین صفات عملکرد دانه، تعداد دانه در غلاف و شاخص برداشت همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (Albayrak & Tongel, 2006). در بررسی آماری اثرات تنش آبیاری بر صفات فنولوژی و زراعی ژنوتیپ‌های لوبیا سفید صفات، تعداد دانه در بوته، وزن صد دانه، وزن غلاف، شاخص برداشت، وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته و طول ریشه اصلی در شرایط نرمال و صفات تعداد دانه در بوته، وزن صد دانه، وزن غلاف، شاخص برداشت و عملکرد بیولوژیک در شرایط تنش بیشترین تأثیر را بر عملکرد دانه داشتند (Ebrahimi et al., 2011; Safapour et al., 2009). در مطالعه همبستگی و ارتباط صفات زراعی در ۳۰ رقم لوبیا بیشترین میزان همبستگی بین صفات عملکرد دانه در بوته، عملکرد بیولوژیک، تعداد غلاف در بوته و تعداد شاخه در بوته گزارش شد. تجزیه ضرایب علیت نشان داد عملکرد دانه در بوته، وزن هزار دانه و ارتفاع بوته بیشترین اثرات مستقیم را بر عملکرد دانه در هکتار داشتند (Karasu & Oz, 2010). در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید صفات تعداد غلاف در بوته، وزن غلاف تازه و تعداد دانه در غلاف همبستگی بسیار معنی‌دار و مثبت با عملکرد داشته و وزن غلاف مهم‌ترین عامل در عملکرد لوبیا شناسایی شد (Dursum, 2007).

به نظر می‌رسد عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش خشکی نقطه شروع خوبی برای انتخاب ژنوتیپ‌ها در شرایط خشکی باشد (Ludlow & Muchow, 1990). استفاده از شاخص‌های انتخاب نخستین‌بار با توجه به رابطه خطی موجود بین آن‌ها و عملکرد دانه گندم و به منظور انتخاب مواد ژنتیکی برتر صورت گرفت (Ebrahimi et al., 2011). در اکثر مطالعات صورت گرفته برای ارزیابی تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیا شاخص‌های میانگین بهره‌وری (MP)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، میانگین هارمونیک بهره‌وری (HARM) و شاخص تحمل به تنش (STI) به عنوان

در غلاف، تعداد دانه در بوته، طول غلاف (میلی‌متر)، عرض غلاف (میلی‌متر)، طول دانه (میلی‌متر)، عرض دانه (میلی‌متر)، قطر دانه (میلی‌متر)، وزن صد دانه (گرم) و شاخص برداشت (نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیکی برحسب درصد) بود که پس از میانگین‌گیری مشاهدات برای صفات مورد بررسی، مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

جدول ۱- اسامی ۳۵ ژنوتیپ لوبیا مورد بررسی
Table 1. Names of studied 35 common bean genotypes

کد ژنوتیپ Genotype code	شماره کلکسیون* Collection No.*	رنگ دانه	کد ژنوتیپ Genotype code	شماره کلکسیون Collection No.	رنگ دانه	کد ژنوتیپ Genotype code	شماره کلکسیون Collection No.	رنگ دانه
1	831	سیاه متمایل به بنفش	13	1165	چیتی	25	Daneshkade	سفید
2	853	چیتی با خالهای قهوه ای	14	1400	زرد براق	26	Ks41118	سفید
3	858	سفید	15	1489	سیاه براق	27	34-ks21104	چیتی
4	862	چیتی با خالهای قهوه ای	16	1497	سبز زیتونی	28	34-ks21107	چیتی
5	887	سفید	17	1534	سیاه تیره	29	45-ks21112	چیتی
6	895	چیتی	18	1545	قرمز روشن	30	Khomein	چیتی
7	951	سیاه براق	19	1-ks41111	سفید	31	55-ks10023	سیاه
8	1001	کرم	20	Goli	قرمز روشن	32	57-ks10012	سیاه
9	1032	چیتی	21	3-ks41113	سفید	33	58-ks10025	سیاه
10	1059	سبز زیتونی	22	3-ks41110	سفید	34	Hasani-sefid	سفید
11	1155	سیاه تیره	23	18-ks31112	قرمز	35	Hasani-chiti	چیتی
12	1164	زرد تیره	24	19-ks31108	قرمز			

* شماره ژنوتیپ‌ها در بانک ژن پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران - کرج.

Genotype codes and numbers as recorded in Gene Bank of University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

$HARM = (2 \times (Y_{pi} \times Y_{si})) / (Y_{pi} + Y_{si})$ (Kristin et al., 1997)

(نرخ کاهش عملکرد) $Yr = 1 - (Y_{si} / Y_{pi})$ (Golestani & Assad, 1998)

که در آن Y_p : میانگین عملکرد ژنوتیپ در شرایط بدون تنش، Y_s : میانگین عملکرد تحت شرایط تنش و SI^1 شدت تنش می‌باشد.

تجزیه‌های آماری از قبیل آزمون نرمال‌بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها، تجزیه واریانس، همبستگی، رگرسیون و تجزیه علیت، تجزیه به عامل‌ها و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS 22 و Path 74، SAS 9.2 و Minitab 16 انجام شدند. در تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام صفت عملکرد به‌عنوان متغیر وابسته و بقیه صفات به‌عنوان متغیرهای مستقل مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای تجزیه ضرایب علیت، همبستگی‌های فنوتیپی به اثرهای مستقیم و غیرمستقیم تفکیک گردید و صفاتی که در رگرسیون گام‌به‌گام وارد مدل شده بودند، به‌عنوان متغیرهای عاملی در نظر گرفته شدند.

با استفاده از عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش (Y_{pi}) و شرایط تنش (Y_{si}) شاخص‌های کمی مقاومت به تنش به شرح زیر محاسبه گردید:

(شاخص میانگین بهره‌وری) $MP = (Y_{pi} + Y_{si}) / 2$

(Rosielle and Hamblin, 1981)

(شاخص تحمل) $TOL = Y_{pi} - Y_{si}$

(Rosielle and Hamblin, 1981)

(شاخص میانگین هندسی بهره‌وری)

$GMP = \sqrt{(Y_{pi} \times Y_{si})}$ (Fernandez, 1992)

(شدت تنش) $SI = 1 - (Y_s / Y_p)$

(Fischer and Maurer, 1978)

(شاخص حساسیت به تنش)

$SSI = (1 - (Y_{si} / Y_{pi})) / SI$

(Fischer and Maurer, 1978)

(شاخص تحمل به تنش) $STI = (Y_{pi} \times Y_{si}) / (Y_p)^2$

(Fernandez, 1992)

(شاخص عملکرد) $YI = Y_{si} / Y_s$

(Gavuzzi et al., 1997)

(شاخص پایداری عملکرد) $YSI = Y_{si} / Y_{pi}$

(Bouslama and Schapaugh, 1984)

(میانگین هارمونیک بهره‌وری)

¹ Stress intensity

ضرایب عامل‌ها پس از چرخش وریماکس^۱ بر مبنای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برآورد شدند. به‌منظور اطمینان از صحت داده‌ها برای تحلیل عاملی از شاخص KMO (کاریزر-میر-اولکین) و آزمون کروولیت بارتلت استفاده شد. همچنین داده‌ها به‌طور تصادفی به دو قسمت تقسیم شدند و سپس تجزیه به عامل‌ها برای هر قسمت به‌طور جداگانه انجام شد. ترسیم شکل بای‌پلات با نرم‌افزار STATGRAPHICS و تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و با استفاده از مربع فاصله اقلیدوسی انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی برای تمامی صفات در هر دو شرایط اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد که نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد (Ebrahimi et al., 2011; Sabokdast & Khialparast, 2007).

برآورد ضرایب همبستگی: شناخت رابطه بین عملکرد دانه و صفات مورفولوژیک در اجرای برنامه‌های گزینشی اهمیت زیادی دارد. بر اساس میانگین ژنوتیپ‌ها ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی تحت شرایط نرمال و تنش خشکی محاسبه شد. نتایج تجزیه همبستگی بین صفات تحت شرایط نرمال نشان داد که عملکرد دانه در بوته به‌ترتیب با صفات وزن دانه با غلاف ($r=0.96^{**}$)، عملکرد بیولوژیک ($r=0.88^{**}$)، تعداد دانه در بوته ($r=0.79^{**}$)، تعداد غلاف در بوته ($r=0.78^{**}$)، روز تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی ($r=0.67^{**}$)، روز تا ۵۰ درصد گلدهی ($r=0.65^{**}$)، روز تا ۵۰ درصد رسیدگی ($r=0.60^{**}$) و ارتفاع بوته ($r=0.58^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان داد. همچنین، در شرایط نرمال بیشترین ضرایب همبستگی به‌ترتیب بین عملکرد دانه در بوته و وزن دانه با غلاف و بین تعداد دانه در بوته و تعداد غلاف در بوته ($r=0.96^{**}$) و بین عملکرد دانه در بوته و عملکرد بیولوژیک ($r=0.88^{**}$) و بین وزن صد دانه و قطر دانه ($r=0.88^{**}$) مشاهده شد.

در شرایط تنش نیز بین عملکرد دانه در بوته به‌ترتیب با صفات وزن دانه با غلاف ($r=0.92^{**}$)، عملکرد بیولوژیک ($r=0.80^{**}$)، تعداد دانه در بوته ($r=0.66^{**}$)، تعداد غلاف در بوته ($r=0.65^{**}$) و تعداد دانه در غلاف ($r=0.45^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد. تحت شرایط تنش خشکی نیز بیشترین ضرایب همبستگی بین تعداد دانه در بوته و تعداد

غلاف در بوته ($r=0.95^{**}$) و بین وزن دانه با غلاف و عملکرد دانه در بوته ($r=0.92^{**}$) و وزن دانه با غلاف و عملکرد بیولوژیک ($r=0.85^{**}$) و بین عملکرد دانه در بوته و عملکرد بیولوژیک ($r=0.80^{**}$) مشاهده شد (جدول ۲). نتایج حاصل از برآورد ضرایب همبستگی با نتایج تحقیقات قبلی انجام‌شده بر روی لوبیا مطابقت داشت (Santalla et al., 1993; Albayrak & Tongel, 2006; Sabokdast & Khialparast, 2007; Naseh Ghafoori et al., 2012; Ebrahimi et al., 2011).

تجزیه رگرسیون و علیت: به‌منظور بررسی تغییرات عملکرد دانه در بوته با استفاده از صفات مورد بررسی، تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام انجام شد. در شرایط نرمال عملکرد بیولوژیکی اولین صفتی بود که وارد مدل شده و به‌تنهایی ۷۷/۵ درصد تغییرات عملکرد را توجیه کرد و پس از آن به‌ترتیب صفات تعداد دانه در بوته و وزن ۱۰۰ دانه وارد مدل شدند که در کل ۸۶/۳ درصد تغییرات مربوط به عملکرد را توجیه کردند. در شرایط تنش نیز صفات عملکرد بیولوژیک و تعداد دانه در بوته و ارتفاع بوته به‌ترتیب وارد معادله رگرسیونی شده و در مجموع ۷۷/۶ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه کردند.

سپس به‌منظور تبیین روابط رگرسیونی و شناسایی نوع اثرگذاری‌ها و همچنین میزان سهم صفات در توجیه تغییرات عملکرد دانه تجزیه ضرایب علیت انجام شد. تحت شرایط نرمال، صفات وزن دانه با غلاف (۱/۰۲۸) و تعداد دانه در غلاف (۰/۱۰۸) بیشترین اثر مستقیم مثبت را روی عملکرد دانه در بوته داشتند. بیشترین اثر غیرمستقیم وزن دانه با غلاف از طریق صفات تعداد دانه در غلاف (۰/۰۳۹) و تعداد دانه در بوته (۰/۰۳۱) و بیشترین اثر غیرمستقیم صفات مورد بررسی از طریق وزن دانه با غلاف مشاهده شد (جدول ۳). تحت شرایط خشکی نیز بیشترین اثر مستقیم مثبت توسط وزن دانه با غلاف (۰/۷۷۵) و عملکرد بیولوژیک (۰/۰۳) و بیشترین اثر مستقیم منفی، توسط وزن ۱۰۰ دانه (۰/۲۰۴-) مشاهده گردید. بیشترین اثر غیرمستقیم مثبت صفات از طریق وزن دانه با غلاف بود. بیشترین اثر غیرمستقیم منفی بر روی عملکرد دانه مربوط به عملکرد بیولوژیک از طریق وزن ۱۰۰ دانه بود (جدول ۴).

در مطالعه بر روی ژنوتیپ‌های لوبیا گزارش شده است که صفات وزن غلاف با دانه، شاخص برداشت و عملکرد بیولوژیکی ۹۸ درصد از تغییرات عملکرد را توجیه می‌کند (Ebrahimi et al., 2011). همچنین، نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون با نتایج تحقیقات قبلی مطابقت داشت (Sabokdast & Khialparast, 2007; Naseh Ghafoori et al., 2012; Safapour et al., 2009).

^۱ Varimax

جدول ۲. ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی در شرایط نرمال (بالای قطر) و تنش خشکی (پایین قطر) درصد.

Table 2. Simple correlation coefficients between traits in common bean genotypes under non-stress (up) and drought stress (down) condition.

Traits	DG	DF	DP	DM	PH(cm)	SDI(mm)	BY(g)	SY(g)	HI	NPP	SPW(g)	NSP ₀	100SW(g)	PL(mm)	PW(mm)	SL(mm)	SW(mm)	SD(mm)
DG	1																	
DF	-0.23 ^{ns}	1																
DP	-0.38 [*]	0.66 ^{**}	1															
DM	0.20 ^{ns}	-0.13 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	1														
PH(cm)	-0.35 [*]	0.48 ^{**}	0.52 ^{**}	-0.19 ^{ns}	1													
SDI(mm)	0.18 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.05 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	-0.13 ^{ns}	1												
BY(g)	-0.33 ^{ns}	0.36 [*]	0.40 [*]	-0.16 ^{ns}	0.69 ^{**}	0.20 ^{ns}	1											
SY(g)	-0.12 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.16 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	0.39 [*]	0.14 ^{ns}	0.80 ^{**}	1										
HI	0.27 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	-0.32 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	-0.47 ^{**}	-0.13 ^{ns}	-0.35 [*]	0.21 ^{ns}	1									
NPP	0.02 ^{ns}	0.24 ^{ns}	0.11 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	0.33 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.48 ^{**}	0.65 [*]	0.25 ^{ns}	1								
SPW(g)	-0.07 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.25 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	0.50 ^{**}	0.20 ^{ns}	0.85 ^{**}	0.92 ^{**}	0.03 ^{ns}	0.65 ^{**}	1							
NSP ₀	0.07 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.01 ^{ns}	-0.25 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.45 ^{**}	0.34 [*]	0.50 ^{**}	0.39 [*]	1						
NSP	0.05 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.47 ^{**}	0.66 ^{**}	0.33 ^{ns}	0.95 ^{**}	0.64 [*]	0.73 ^{**}	1					
100SW(g)	-0.26 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.14 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	0.21 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	-0.36 [*]	-0.60 ^{**}	0.06 ^{ns}	-0.48 ^{**}	-0.63 ^{**}	1				
PL(mm)	-0.13 ^{ns}	0.24 ^{ns}	0.31 ^{ns}	-0.20 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.37 [*]	0.41 [*]	0.28 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.46 ^{**}	0.14 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.34 [*]	1			
PW(mm)	0.04 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.20 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.07 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	-0.40 [*]	0.08 ^{ns}	-0.30 ^{ns}	-0.41 [*]	0.72 ^{**}	0.16 ^{ns}	1		
SL(mm)	-0.17 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.27 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.14 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	-0.37 [*]	-0.49 ^{**}	0.03 ^{ns}	-0.57 [*]	0.82 ^{**}	0.54 ^{**}	0.59 ^{**}	0.45 ^{**}	1	
SW(mm)	-0.26 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.34 [*]	-0.33 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.37 [*]	-0.38 [*]	0.12 ^{ns}	-0.36 [*]	0.80 ^{**}	0.00 ^{ns}	0.79 ^{**}	0.50 ^{**}	0.70 ^{**}	1
SD(mm)	-0.22 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.02 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	-0.48 ^{**}	0.06 ^{ns}	-0.43 ^{**}	0.82 ^{**}	0.00 ^{ns}	0.55 ^{**}	0.45 ^{**}	0.78 ^{**}	0.83 ^{**}

ns= Not significant, * and **= Significant at 5% and 1% probability level, respectively.

Abbreviation: DG= Days to 50% germination, DF= Days to 50% flowering, DP= Days to 50% podding, DM= Days to 50% maturity, PH= Plant height, SDI= Stem diameter (cm), BY= Biological yield (g), SY= Seed yield (g), HI= Harvest index, NPP= Number of pods per plant, SPW= Seed via pod weight per plant (g), NSP₀= Number of seeds per pod, NSP= Number of seeds per plant, 100SW= 100- seed weight (g), PL= Pod length (mm), PW= Pod width (mm), SL= Seed length (mm), SW= Seed width (mm), SD= Seed diameter (mm).

جدول ۳- تجزیه ضرایب علیت فنوتیپی برای عملکرد دانه در بوته در ژنوتیپ‌های لوبیا در شرایط نرمال

Table 3. Path analysis for grain yield in common bean genotypes under non-drought stress condition

صفات Traits	ضریب همبستگی (r_p) Correlation coefficient	اثر مستقیم Direct effect	اثر غیرمستقیم از طریق Indirect effect via طریق				
			1	2	3	4	5
Seed via pod weight per plant وزن دانه با غلاف	0.96	1.03	-	0.04	-0.15	0.03	0.01
Number of seeds per pod تعداد دانه در غلاف	0.44	0.11	0.37	-	-0.05	0.03	-0.02
Biological yield عملکرد بیولوژیک	0.88	-0.16	0.97	0.03	-	0.03	0.02
Number of seeds per plant تعداد دانه در بوته	0.79	0.04	0.80	0.07	-0.11	-	-0.02
100- seed weight وزن ۱۰۰ دانه	0.17	0.05	0.23	-0.05	-0.05	-0.01	-
Residual= 0.25							

جدول ۴- تجزیه ضرایب علیت فنوتیپی برای عملکرد دانه در بوته در ژنوتیپ‌های لوبیا در شرایط تنش خشکی

Table 4. Path analysis for grain yield in common bean genotypes under drought stress condition

صفات Traits	ضریب همبستگی (r_p) Correlation coefficient	اثر مستقیم Direct effect	اثر غیر مستقیم از طریق Indirect effect via طریق				
			1	2	3	4	5
Seed via pod weight per plant وزن دانه با غلاف	0.92	0.78	-	-0.07	0.26	0.06	-0.10
Number of seeds per pod تعداد دانه در غلاف	0.28	-0.16	0.35	-	0.12	0.01	-0.04
Biological yield عملکرد بیولوژیک	0.80	0.30	0.66	-0.07	-	0.05	-0.14
Number of seeds per plant تعداد دانه در بوته	0.66	0.10	0.50	-0.01	0.14	-	-0.06
100- seed weight وزن ۱۰۰ دانه	0.39	-0.20	0.39	-0.03	0.21	0.03	-
Residual=0.33							

جدول ۵- تجزیه به عامل‌ها با دوران وریماکس برای ژنوتیپ‌های لوبیا در شرایط نرمال

Table 5. Factor analysis using varimax rotation for common bean genotypes under non-drought stress condition

Traits	صفات	عامل اول	عامل دوم	عامل سوم	عامل چهارم	عامل پنجم	میزان اشتراک
		First factor	Second factor	Third factor	Forth factor	Fifth factor	Communality
DF	روز تا ۵۰ درصد گلدهی	<u>0.78</u>	-0.10	0.15	0.30	-0.003	0.74
DP	روز تا ۵۰ درصد غلاف دهی	<u>0.77</u>	-0.07	0.18	0.38	-0.30	0.86
DM	روز تا ۵۰ درصد رسیدگی	<u>0.59</u>	0.29	0.35	0.44	-0.33	0.85
PH(cm)	ارتفاع بوته (cm)	<u>0.65</u>	0.49	-0.21	0.02	0.04	0.70
BY(g)	عملکرد بیولوژیک بوته (g)	<u>0.90</u>	0.30	0.16	0.15	-0.06	0.95
SY(g)	عملکرد دانه در بوته (g)	<u>0.92</u>	0.17	0.12	-0.20	-0.14	0.94
NPP	تعداد غلاف در بوته	<u>0.89</u>	-0.18	-0.05	-0.12	0.23	0.89
SPW(g)	وزن دانه با غلاف (g)	<u>0.93</u>	0.20	0.17	-0.08	-0.10	0.96
NSPo	تعداد دانه در غلاف	<u>0.51</u>	-0.22	-0.41	-0.50	-0.06	0.74
NSP	تعداد دانه در بوته	<u>0.88</u>	-0.21	-0.15	-0.26	0.16	0.94
100SW(g)	وزن صد دانه (g)	-0.05	<u>0.82</u>	0.40	0.13	-0.25	0.92
PW(mm)	عرض غلاف (mm)	0.03	<u>0.83</u>	-0.003	-0.06	-0.01	0.69
SL(mm)	طول دانه (mm)	-0.08	<u>0.64</u>	0.60	0.32	-0.06	0.89
SW(mm)	عرض دانه (mm)	0.07	<u>0.90</u>	0.10	0.24	-0.17	0.91
SD(mm)	قطر دانه (mm)	0.10	<u>0.82</u>	0.12	0.25	-0.17	0.78
PL(mm)	طول غلاف (mm)	0.33	0.26	<u>0.77</u>	-0.09	0.02	0.78
HI	شاخص برداشت	-0.01	-0.29	0.06	<u>-0.82</u>	-0.03	0.76
DG	روز تا ۵۰ درصد جوانه زنی	-0.10	-0.16	-0.23	-0.03	<u>0.83</u>	0.78
SDi(mm)	قطر ساقه (mm)	0.09	-0.21	0.43	0.06	<u>0.78</u>	0.85
Eigen values	مقادیر ویژه	6.47	4.09	1.88	1.75	1.73	-
Cumulative of variance (%)	درصد سهم تجمعی	34.08	55.59	65.47	74.65	83.76	-

For abbreviations see Table 2.

برای اختصارات به جدول ۲ مراجعه شود.

با توجه به این که صفات وزن دانه با غلاف و تعداد دانه در غلاف و عملکرد بیولوژیکی از جمله فاکتورهای اصلی اجزای عملکرد دانه در لوبیا هستند و از آنجایی که در تحقیق حاضر این صفات بیشترین تأثیر مستقیم و غیرمستقیم مثبت را روی عملکرد دانه در بوته داشتند، بنابراین می‌توان این صفات را به‌عنوان معیارهایی برای انتخاب ارقام پرمحصول لوبیا در شرایط نرمال معرفی کرد.

براساس تجزیه به عامل‌ها در شرایط تنش نیز به‌طور کلی پنج عامل انتخاب شدند که در کل ۷۹/۰۸ درصد از تغییرات

داده‌ها را توجیه کردند (جدول ۶). عامل اول ۲۵/۸۶ درصد از تغییرات را توجیه کرد و شامل صفات وزن صد دانه، عرض غلاف، طول بذر، عرض بذر و قطر بذر می‌باشد و عامل دوم ۲۲/۴۸ درصد از تغییرات را توجیه کرد و شامل صفات عملکرد بیولوژیک بوته، عملکرد دانه در بوته، تعداد غلاف در بوته، وزن دانه با غلاف در بوته، تعداد بذر در غلاف و تعداد بذر در بوته بود. بنابراین، همانند شرایط نرمال این دو عامل را می‌توان به‌عنوان عامل عملکرد و اجزای عملکرد معرفی کرد.

جدول ۶- تجزیه به عامل‌ها با دوران وریماکس برای ژنوتیپ‌های لوبیا در شرایط تنش خشکی

Table 6. Factor analysis using varimax rotation for common bean genotypes under drought stress condition

Traits	صفات	عامل اول First factor	عامل دوم Second factor	عامل سوم Third factor	عامل چهارم Fourth factor	عامل پنجم Fifth factor	میزان اشتراک Communality
100-SW(g)	وزن صد دانه (g)	0.95	-0.10	0.12	0.16	0.07	0.95
PW(mm)	عرض غلاف (mm)	0.82	0.08	-0.05	0.04	-0.10	0.69
SL(mm)	طول دانه (mm)	0.74	-0.20	0.19	0.48	0.09	0.85
SW(mm)	عرض دانه (mm)	0.89	0.10	0.17	-0.27	-0.10	0.91
SD(mm)	قطر دانه (mm)	0.85	-0.03	0.04	0.18	0.01	0.75
BY(g)	عملکرد بیولوژیک بوته (g)	0.24	0.80	0.45	0.15	-0.03	0.93
SY(g)	عملکرد دانه در بوته (g)	0.06	0.94	0.01	0.07	0.14	0.92
NPP	تعداد غلاف در بوته	-0.54	0.75	0.08	-0.05	0.02	0.86
SPW(g)	وزن دانه با غلاف در بوته (g)	0.10	0.93	0.14	0.22	0.05	0.94
NSPo	تعداد دانه در غلاف	-0.50	0.54	-0.03	-0.04	0.25	0.61
NSP	تعداد دانه در بوته	-0.59	0.77	0.04	-0.05	0.12	0.96
DG	روز تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی	-0.20	0.01	-0.57	0.21	-0.40	0.56
DF	روز تا ۵۰ درصد گلدهی	-0.23	0.17	0.71	0.18	0.08	0.63
DP	روز تا ۵۰ درصد غلافدهی	0.05	0.08	0.80	0.16	0.23	0.73
PH(cm)	ارتفاع بوته (cm)	0.16	0.47	0.72	-0.15	0.06	0.80
HI	شاخص برداشت	-0.33	0.16	-0.65	-0.12	0.37	0.71
SDi	قطر ساقه (mm)	-0.21	0.09	0.02	0.81	-0.23	0.75
PL(mm)	طول غلاف (mm)	0.22	0.23	0.16	0.76	0.33	0.82
DM	روز تا ۵۰ درصد رسیدگی	0.11	-0.15	-0.14	-0.04	-0.77	0.66
Eigen values	مقادیر ویژه	4.91	4.27	2.78	1.81	1.25	-
Cumulative of variance (%)	درصد سهم تجمعی	25.86	48.34	62.98	72.51	79.08	-

برای اختصارات به جدول ۲ مراجعه شود.

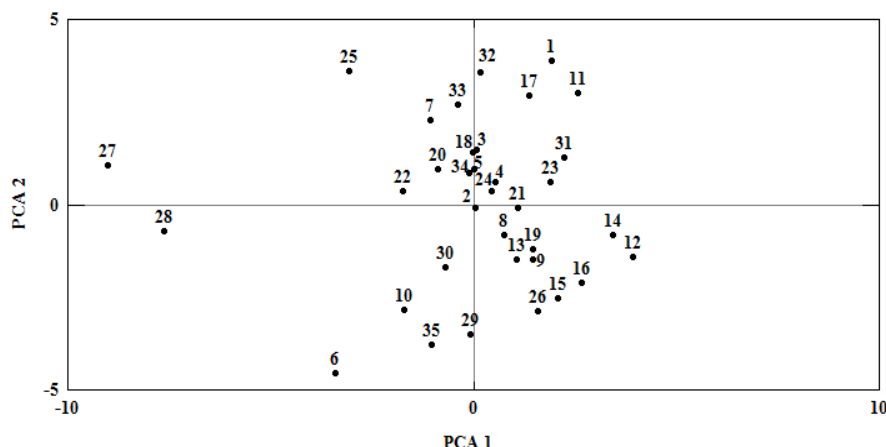
For abbreviations see Table 2.

دانه در بوته بیشتری نیز نشان دادند (شکل ۱). تحت شرایط تنش خشکی نیز موقعیت ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اصلی اول و دوم بررسی شد (شکل ۲) و ژنوتیپ‌های ۶، ۱۰، ۲۲، ۲۷، ۲۸، ۲۹ و ۳۵ که دارای عامل اول و دوم مثبت و بالاتری بودند، عملکرد دانه بیشتری تحت شرایط تنش خشکی نیز نشان دادند.

با توجه به این که در هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی، دو عامل اصلی اول و دوم بیشترین تغییرات واریانس داده‌ها را توجیه کردند و صفات عملکرد دانه و اجزای عملکرد در این عامل‌ها قرار داشتند، از این دو عامل جهت به‌دست آوردن پراکنش و شناسایی ژنوتیپ‌ها برتر در دستگاه مختصات استفاده شد. در شرایط نرمال ژنوتیپ‌های ۱، ۱۱، ۱۷، ۲۳ و ۳۱ که از نظر عامل‌های اول و دوم مثبت و بالاتر بودند، عملکرد

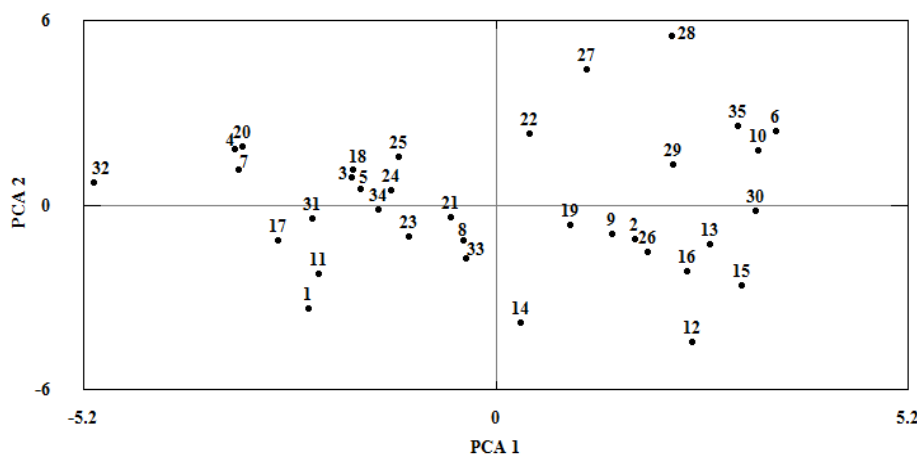
(2011) در بررسی بر روی ارقام لوبیا سفید توانستند سه عامل پنهانی را شناسایی کنند که در مجموع ۸۲ درصد از تغییرات عملکرد را توجیه می‌کرد.

Keshavarznia *et al*, (2013) با بررسی تنوع ژنتیکی لوبیا در دو شرایط نرمال و تنش خشکی چهار عامل را شناسایی کردند که در شرایط نرمال ۷۸/۵ درصد و در شرایط تنش ۷۷/۳۲ درصد تغییرات را توجیه کرد. Ebrahimi *et al*,



شکل ۱- پراکنش ژنوتیپ‌های لوبیا براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم در شرایط نرمال

Fig. 1. Distribution of common bean genotypes on the basis of the first and the second principal components under non-drought stress condition



شکل ۲- پراکنش ژنوتیپ‌های لوبیا براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم در شرایط تنش خشکی

Fig. 2. Distribution of common bean genotypes on the basis of the first and the second principal components under drought stress condition

در هر دو شرایط در نظر گرفت. علاوه بر ژنوتیپ ۲۷، ژنوتیپ‌های ۲۵ و ۲۸ نیز از نظر شاخص‌های تحمل به خشکی MP، GMP، HARM و STI بالاترین مقادیر را داشتند. به عقیده Blum (1988) بهترین شاخص آن است که در هر دو شرایط نرمال و تنش دارای همبستگی معنی‌داری با عملکرد باشد. بنابراین، با استفاده از تحلیل همبستگی بین عملکرد در شرایط نرمال و تنش و شاخص‌های کمی تحمل به خشکی، شاخص‌های تحمل، غربال و مناسب‌ترین شاخص‌ها انتخاب گردید (جدول ۸).

ارزیابی تحمل به خشکی: به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل، شاخص‌های تحمل به خشکی برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی محاسبه شدند (جدول ۷). با توجه به این که ژنوتیپ شماره ۲۷ علاوه بر دارابودن عملکرد بالا در شرایط نرمال و تنش، از نظر شاخص‌های تحمل به خشکی نیز بیشترین مقدار شاخص میانگین بهره‌وری (MP)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، میانگین هارمونیک (HARM)، شاخص تحمل به تنش (STI) و شاخص تحمل (TOL) را دارد، می‌توان آن را مناسب‌ترین ژنوتیپ برای کشت

جدول ۷- برآورد مقادیر شاخص‌های تحمل به خشکی بر اساس میانگین عملکرد ژنوتیپ‌های لوبیا در شرایط نرمال و تنش

Table 7. Estimated drought tolerance indices based on average performance of common bean

genotypes under non-stress and stress conditions											
Genotype	Yp	Ys	MP	GMP	HARM	STI	SSI	TOL	YSI	YI	Yr
1	39.76	15.38	27.57	24.73	22.18	0.44	1.44	24.38	0.39	0.72	0.61
2	31.53	14.38	22.96	21.29	19.75	0.33	1.28	17.15	0.46	0.67	0.54
3	40.71	26.05	33.38	32.56	31.77	0.77	0.85	14.66	0.64	1.22	0.36
4	38.10	36.62	37.36	37.35	37.34	1.01	0.09	1.48	0.96	1.71	0.04
5	30.99	28.15	29.57	29.54	29.50	0.63	0.21	2.83	0.91	1.32	0.09
6	31.26	11.30	21.28	18.80	16.60	0.26	1.50	19.96	0.36	0.53	0.64
7	52.14	26.14	39.14	36.92	34.82	0.98	1.17	26.01	0.50	1.22	0.50
8	34.04	18.05	26.04	24.79	23.59	0.44	1.10	15.99	0.53	0.84	0.47
9	30.52	21.57	26.05	25.66	25.28	0.48	0.69	8.95	0.71	1.01	0.29
10	42.27	22.71	32.49	30.99	29.55	0.69	1.09	19.56	0.54	1.06	0.46
11	31.52	16.05	23.79	22.49	21.27	0.37	1.15	15.48	0.51	0.75	0.49
12	11.43	9.14	10.29	10.22	10.16	0.08	0.47	2.29	0.80	0.43	0.20
13	25.28	16.57	20.93	20.47	20.02	0.30	0.81	8.71	0.66	0.78	0.34
14	16.43	12.05	14.24	14.07	13.90	0.14	0.63	4.38	0.73	0.56	0.27
15	21.24	13.52	17.38	16.95	16.52	0.21	0.85	7.71	0.64	0.63	0.36
16	20.38	15.62	18.00	17.84	17.69	0.23	0.55	4.76	0.77	0.73	0.23
17	28.10	17.33	22.71	22.07	21.44	0.35	0.90	10.76	0.62	0.81	0.38
18	39.57	27.33	33.45	32.89	32.33	0.78	0.73	12.24	0.69	1.28	0.31
19	30.43	20.76	25.60	25.13	24.68	0.46	0.75	9.67	0.68	0.97	0.32
20	42.10	28.05	35.07	34.36	33.67	0.85	0.78	14.05	0.67	1.31	0.33
21	30.29	19.48	24.88	24.29	23.71	0.43	0.84	10.81	0.64	0.91	0.36
22	54.19	18.86	36.52	31.97	27.98	0.74	1.53	35.33	0.35	0.88	0.65
23	36.62	21.00	28.81	27.73	26.69	0.56	1.00	15.62	0.57	0.98	0.43
24	29.36	21.71	25.54	25.25	24.96	0.46	0.61	7.64	0.74	1.02	0.26
25	69.03	32.43	50.73	47.32	44.13	1.62	1.25	36.60	0.47	1.52	0.53
26	25.57	17.86	21.71	21.37	21.03	0.33	0.71	7.71	0.70	0.84	0.30
27	98.23	28.89	63.56	53.27	44.65	2.05	1.66	69.33	0.29	1.35	0.71
28	69.85	31.87	50.86	47.19	43.77	1.61	1.28	37.98	0.46	1.49	0.54
29	33.24	27.62	30.43	30.30	30.17	0.66	0.40	5.62	0.83	1.29	0.17
30	34.95	11.42	23.18	19.97	17.21	0.29	1.58	23.54	0.33	0.53	0.67
31	24.95	22.10	23.52	23.48	23.44	0.40	0.27	2.86	0.89	1.03	0.11
32	44.83	38.33	41.58	41.45	41.33	1.24	0.34	6.49	0.86	1.79	0.14
33	34.17	12.63	23.40	20.78	18.45	0.31	1.48	21.54	0.37	0.59	0.63
34	44.34	29.19	36.76	35.98	35.20	0.93	0.80	15.15	0.66	1.37	0.34
35	34.85	17.95	26.40	25.01	23.70	0.45	1.14	16.90	0.52	0.84	0.48

Abbreviations: Yp: Potential Yield; Ys: Stress Yield; MP: Mean Productivity; GMP: Geometric Mean Productivity; HARM: Harmonic Mean; STI: Stress Tolerance Index; SSI: Stress Susceptibility Index; TOL: Tolerance index; YSI: Yield Stability Index; YI: Yield Index; Yr: Yield reduction rate.

گردید (شکل ۳). در فضای بای پلات ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مشخصی قرار گرفتند که مرتبط با میانگین عملکرد و تحمل آن‌ها به کمبود آب است. جدول ۴-۲۱ نشان می‌دهد که ۵۹/۰۲ درصد از تغییرات کل داده‌ها مربوط به مؤلفه اول است که دارای همبستگی مثبت و بالایی با Yp، Ys، MP، GMP، HARM، STI می‌باشد و از این نظر به نام مؤلفه پتانسل و پایداری عملکرد و تحمل به خشکی نام‌گذاری گردید. بنابراین، روی بای پلات حاصله با توجه به مقادیر بالای این مؤلفه‌ها می‌توان ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا را انتخاب کرد. دومین مؤلفه که ۳۹/۲۹ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه کرد و با شاخص‌های SSI، TOL و Yr همبستگی مثبت بسیار بالایی نشان داده است. بنابراین، بر مبنای این مؤلفه، ارقامی انتخاب می‌شوند که سازگاری خصوصی به شرایط بدون تنش دارند، به همین دلیل می‌توان مؤلفه دوم را به‌عنوان مؤلفه حساسیت به خشکی نام‌گذاری کرد.

با توجه به این‌که شاخص‌های STI، MP، GMP و HARM همبستگی بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با عملکرد آبی و دیم نشان دادند، لذا می‌توان این شاخص‌ها را به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص‌ها برای غربال کردن ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی که در شرایط نرمال و دیم نیز عملکرد بالایی دارند، در نظر گرفت. شاخص تحمل (TOL) و حساسیت به تنش (SSI) نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار با عملکرد در شرایط بدون تنش نشان دادند. همبستگی این شاخص‌ها با عملکرد در شرایط تنش معنی‌دار نبود.

برای بررسی روابط بین عملکرد ژنوتیپ‌ها و شاخص‌های تحمل نمودار بای پلات ترسیم شد، بدین‌منظور ابتدا تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر مبنای شاخص‌ها تحمل به تنش و عملکرد تحت شرایط نرمال و تنش انجام شد و ضرایب عامل‌ها پس از چرخش وریماکس و بر مبنای روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برآورد شدند (جدول ۹).

بای پلات مربوطه بر مبنای دو مؤلفه اول و دوم که ۹۸/۳۱ درصد از تغییرات موجود بین داده‌ها را توجیه می‌کند، ترسیم

جدول ۸- ضرایب همبستگی بین عملکرد در شرایط نرمال و تنش با شاخص‌های تحمل در ۳۵ ژنوتیپ لوبیا

Table 8. Correlation coefficients between yield under no-stress (Yp) and drought stress (Ys) with tolerance indices in 35 common bean genotypes

	Yp	Ys	MP	GMP	HARM	STI	SSI	TOL	YSI	YI	Yr
Yp	1										
Ys	0.95**	1									
MP	0.96**	0.79**	1								
GMP	0.91**	0.78**	0.99**	1							
HARM	0.83**	0.94**	0.95**	0.99**	1						
STI	0.93**	0.81**	0.99**	0.98**	0.95**	1					
SSI	0.50**	-0.33 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.17 ^{ns}	1				
TOL	0.89**	0.16 ^{ns}	0.73**	0.62**	0.49**	0.68**	0.79**	1			
YSI	0.50**	0.33 ^{ns}	-0.26 ^{ns}	-0.14 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	-1.0**	-0.79**	1		
YI	0.60**	1.0**	0.79**	0.87**	0.94**	0.81**	-0.33 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.33 ^{ns}	1	
Yr	0.50**	-0.33 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.18 ^{ns}	1.0**	0.79**	-1.0**	-0.33 ^{ns}	1

ns و ** به ترتیب عدم اختلاف آماری معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

ns and **: Not-significant, Significant at 1% probability level, respectively.

Yp: Potential Yield; Ys: Stress Yield; MP: Mean Productivity; GMP: Geometric Mean Productivity; HARM: Harmonic mean; STI: Stress Tolerance Index; SSI: Stress Susceptibility Index; TOL: Tolerance index; YSI: Yield Stability Index; YI: Yield Index; Yr: Yield reduction rate.

جدول ۹- مقادیر ویژه، بردارهای ویژه و سهم تجمعی شاخص‌های تحمل و عملکرد در شرایط تنش و نرمال در ۳۵ ژنوتیپ

Table 5. Eigen values and proportion variance of tolerance indices and yield under non stress and drought stress condition in 35 common bean genotypes

مؤلفه	مقادیر ویژه	درصد سهم تجمعی	Yp	Ys	MP	GMP	HARM	STI	YI	SSI	TOL	YSI	Yr
component	Eigen values	Cumulative of variance (%)											
1	6.49	59.02	0.83	0.94	0.95	0.99	0.99	0.96	0.94	-0.03	0.50	0.03	-0.03
2	4.32	98.31	0.54	-0.32	0.30	0.17	0.02	0.22	-0.33	0.99	0.84	-0.99	-0.99

For abbreviations see Table 8.

برای اختصارات به جدول ۸ مراجعه شود.

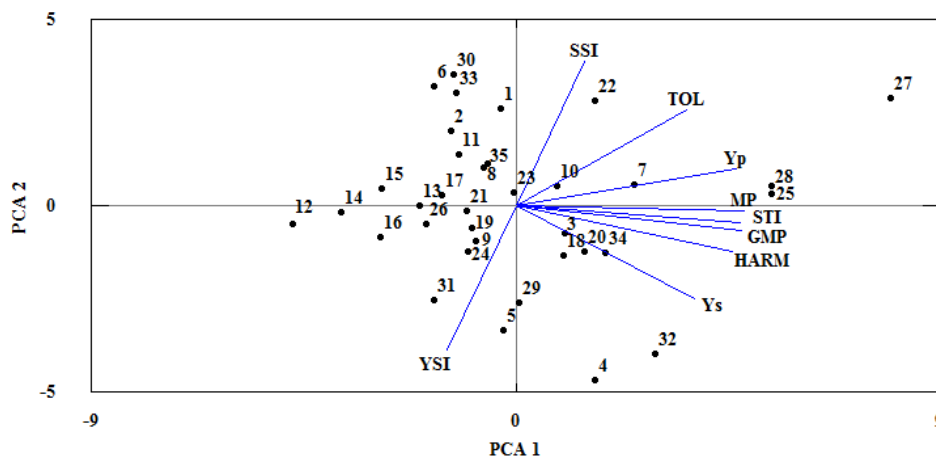
شاخص‌های MP، GMP، HARM و STI نشان‌دهنده همبستگی شدید بین این شاخص‌هاست. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و شکل بای‌پلات برای تفکیک ارقام نسبت به تنش خشکی در لوبیا توسط (Fernandez 1992) مورد استفاده و تأیید قرار گرفته است.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر مبنای شاخص‌های STI، MP، GMP، HARM و عملکرد در شرایط نرمال و تنش، با استفاده از روش Ward انجام شد و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در سه کلاستر تقسیم‌بندی شدند (شکل ۴). همان‌طور که ملاحظه شد، ۲۱ ژنوتیپ در کلاستر اول، ۳ ژنوتیپ در کلاستر دوم و ۱۱ ژنوتیپ در کلاستر سوم قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های متحمل با بیشترین فاصله از ژنوتیپ‌های حساس (کلاستر اول) در کلاستر سوم قرار دارند. بنابراین، با توجه به فاصله ژنتیکی این ژنوتیپ‌ها می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای تولید هیبریدهای با عملکرد بالا و متحمل به خشکی استفاده نمود. Shafiee et al, (2012) برای شناسایی ارقام متحمل از شاخص‌های MP، GMP، HARM و STI استفاده کردند و بر اساس آن‌ها ژنوتیپ‌های آزمایشی را در چهار کلاستر طبقه

از آنجایی که همبستگی بالایی بین عملکرد در شرایط تنش و همچنین شاخص‌های تحمل به خشکی با مؤلفه اول وجود دارد و از طرفی همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مؤلفه دوم و عملکرد پتانسیل وجود دارد، لذا ژنوتیپ‌هایی که در فضای بالایی این دو مؤلفه قرار می‌گیرند، شامل ژنوتیپ‌های ۲۷، ۲۸، ۲۵، ۲۲، ۷ و ۱۰ پرمحصول هستند و در هر دو شرایط عملکرد بالایی دارند. اما با توجه به این‌که در مجاورت شاخص‌های حساسیت قرار دارند و از نظر عامل دوم نیز مقادیر بالا دارند، می‌توان گفت نسبتاً حساس‌اند. ژنوتیپ‌های ۱، ۳۰، ۳۳، ۶، ۲، ۱۱، ۸ و ۳۵ از لحاظ عامل اول منفی و از لحاظ عامل دوم مثبت می‌باشند. در نتیجه، در شرایط نرمال عملکرد بالا و در تنش عملکرد پایینی دارند و حساس می‌باشند. ژنوتیپ‌های ۳۲، ۴، ۳۴، ۲۰ و ۱۸ از لحاظ عامل اول مثبت و از لحاظ عامل دوم منفی می‌باشند و می‌توان آن‌ها را نسبتاً از جمله ژنوتیپ‌های متحمل دانست. ژنوتیپ‌های ۳۱، ۱۶، ۱۴ و ۱۲ از لحاظ هر دو عامل منفی بوده و مقادیر منفی داشتند. با توجه به این‌که زاویه بین بردارها میزان همبستگی بین متغیرها را نشان می‌دهد، همان‌طور که ملاحظه می‌گردد، زاویه تند بین

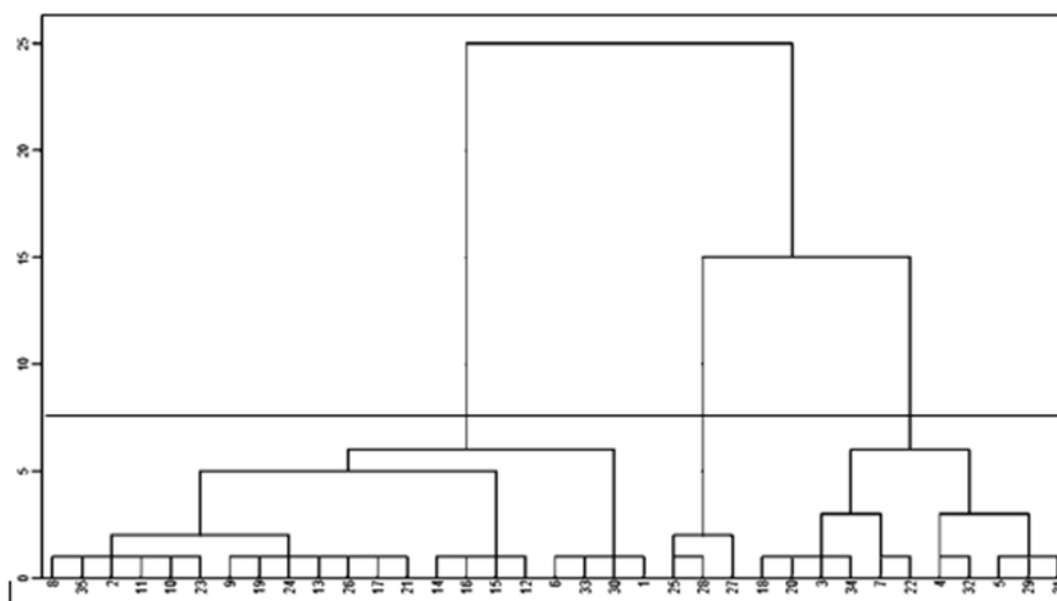
معمول داشتند و بر اساس این شاخص‌ها دو ژنوتیپ مقاوم به خشکی را معرفی کردند (Naroui Rad et al., 2008).

بندی کردند. در بررسی ۱۸ ژنوتیپ عدس شاخص‌های GMP و STI بیشترین همبستگی را با عملکرد در شرایط خشکی و



شکل ۳- نمایش بای پلات ۳۵ ژنوتیپ لوبیا در ۹ شاخص تحمل به خشکی بر اساس دو مؤلفه اول و دوم

Fig 3. Biplot for 35 common bean genotypes at 9 drought tolerance indices on the basis of first and second principal components



شکل ۴- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ۳۵ ژنوتیپ لوبیا بر اساس عملکرد تحت شرایط نرمال (Yp) و تنش (Ys) و شاخص‌های MP، GMP، HARM و STI با استفاده از روش Ward

Fig. 4. Dendrogram obtained by cluster analysis of 35 common bean genotypes based on Yp, Ys and MP, GMP, HARM and STI indices using Ward's method

گزینش آن‌ها با توجه به صفات مذکور می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از همبستگی‌های فنوتیپی، رگرسیون و تجزیه علیت در هر دو شرایط نرمال و تنش می‌توان نتیجه گرفت که صفات وزن غلاف با دانه، تعداد دانه در بوته، تعداد بذر در غلاف، عملکرد بیولوژیک و وزن ۱۰۰ دانه از جمله صفات مهم و تأثیرگذار بر عملکرد دانه می‌باشند و با توجه تنوع مشاهده‌شده

نتیجه‌گیری

نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد بررسی در شرایط نرمال اختلاف معنی‌داری وجود دارد که بیانگر وجود تفاوت و تنوع بین ژنوتیپ‌ها و امکان

اول و دوم مثبت و بالاتر بودند و عملکرد دانه در بوته بیشتری نیز داشتند، به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر انتخاب شدند. شاخص‌های STI، MP، GMP و HARM به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص‌ها برای غربال کردن ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی معرفی می‌شوند و بر اساس این شاخص‌ها ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در سه گروه طبقه بندی شدند که از تلاقی کلاستر اول و سوم برای دستیابی به هیبریدهای مقاوم می‌توان بهره گرفت.

برای این صفات در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌توان با انتخاب و اصلاح برای این صفات، عملکرد دانه در بوته را به‌نحو مطلوبی افزایش داد. بر اساس تجزیه به عامل‌ها در هر دو شرایط نرمال و تنش، پنج عامل براساس مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک انتخاب شدند که در شرایط نرمال در مجموع ۸۳/۷۶ درصد و در شرایط تنش ۷۹/۰۸ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند. پس از ترسیم نمودار بای‌پلات در شرایط نرمال ژنوتیپ‌های ۱، ۱۱، ۱۷، ۲۳ و ۳۱ و تحت شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌های ۶، ۱۰، ۲۲، ۲۷، ۲۸، ۲۹ و ۳۵ که از نظر عامل‌های

منابع

- Adams, M.W. 1982. Plant architecture and yield breeding. Iowa State Journal of Research 56(3): 225-254.
- Albayrak, S., and Tongel, O. 2006. Path analysis of yield and yield-related traits of common vetch (*Vicia sativa* L.) under different rainfall conditions. Journal of Faculty of Agriculture OMU 21: 27-32.
- Amini, A., Bihamta, M.R., and Abdmishani, C. 2002. Genetic diversity between difference traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Agricultural Sciences, Agricultural Economics and Development 33: 605-615. (In Persian with English Summary).
- Bennett, J.P., Adams, M.W., and Burga, C. 1997. Pod yield component variation and inter correlation in *Phaseolus vulgaris* as affected by planting density. Journal of Crop Science 17: 73-75.
- Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press Florida. 212 pp.
- Bousslama, M., and Schapaugh, W.T. 1984. Stress tolerance in soybean. Part 1: evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. Journal of Crop Science 24: 933-937.
- Dursum, A. 2007. Variability, heritability and correlation studies in bean genotypes. World Journal of Agricultural Sciences 3(1): 12-16.
- Ebrahimi, M., Bihamta, M.R., Hosein-Zadeh, A., and Khialparast, F. 2011. Evaluation of relation of grain yield with important agronomic traits of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using different analyses methods under normal and water stress conditions. Journal of Crops Improvement 13(2): 27-40. (In Persian with English Summary).
- Fernandez, G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: C.G. You (Ed.). Adaptation of Food Crop to Temperature and Water Stress. AVRDC, Hanhua, Taiwan, PP. 257-270.
- Fischer, R.A., and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars: I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research 29: 895-97.
- Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campalino, R.G., Ricciardi, G.L., and Borghi, B. 1997. Evaluation of field and laboratory of drought and heat stress in winter cereals. Canadian Journal Plant Science 77: 523-531.
- Golestani, S.A., and Assad, M.T. 1998. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat. Euphytica 103: 293-299. (In Persian with English Summary).
- Kaiser, H.F. 1970. A second generation Little Jiffy. Psychometrika 35: 401-415.
- Karasu, A., and OZ, M. 2010. A study on coefficient analysis and association between agronomical characters in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Bulgarian Journal of Agricultural Science 16(2): 203-211.
- Keshavarznia, R., Mohammadi, B., and Abbasi, A. 2013. Evaluation of genetic diversity of common bean by using morphological traits in under two normal and drought stress condition. Iranian Journal of Crop Science 44(2): 305-315. (In Persian with English Summary).
- Khaghani, Sh., Bihamta, M.R., Changizi, M., Dori, H.R., Khaghani, Sh., Bakhtiari, A., and Safapour, M. 2009. Compare quantitative and quality traits in white and red bean in common irrigation and drought stress. Journal of Environmental Stress in Plant Science 1(2): 169-181. (In Persian with English Summary).

17. Kristin, A.S., Senra, R.R., Perez, F.I., Enriques, B.C., Gallegos, J.A.A., Vallego, P.R., Wassimi, N., and Kelley, J.D. 1997. Improving common bean performance under drought stress. *Journal of Crop Science* 37: 43-50.
18. Ludlow, M., and Munchow, R.C. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yield in water limited environments. *Advances in Agronomy* 43: 107-153.
19. Majnoun Hossini, N. 2008. Grain Legume Prudction. Jahad Daneshgahi Universib of Tehran. 283 pp. (In Persian with English Summary).
20. Manivannan, P., Jaleel, C.A., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2008. Protection of (*Vigna unguiculata* L.) Walp. plants from salt stress by paclobutrazol. *Colloids and surfaces. Biointerfaces* 61(2): 315-318.
21. Mc Clean, P., Kami, J., and Gepts, P. 2004. Genomic and genetic diversity in common bean. In: R.F. Wilson, H.T. Stalker and E.C. Brummer (Eds.). *Legume Crop Genomic*. AOCS Press, Champaign. 60-82.
22. Narouie Rad, M., and Aghaie, M. 2008. Genetic variation in some phenological and morphological traits masses of hot and dry lentils. *Journal of Agriculture Research and Development* 74(4): 40-48. (In Persian with English Summary).
23. Naseh-Ghafoori, I., Bihamta, M.R., Afzali, M., and Dori, H. 2012. Comparison of seed yield and related traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties under normal and water deficit conditions. *Iranian Journal of Pulses Research* 3(1): 93-104. (In Persian with English Summary).
24. Rosielle, A.A., and Hamblin, J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *Journal of Crop Science* 21: 43-46.
25. Sabokdast, M., and Khyalparast, F. 2007. A study of relationship between grain yield and yield components in common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural of Resource* 11 (42): 123-134. (In Persian with English Summary).
26. Safapour, M., Khaghani, Sh., Amir Abadi, M., Teymori, M., and Bebian, M.K. 2009. Compared the effects of water stress on agronomic traits and phenology of white beans. *Findings of Modern Agricultural* 4: 367-378. (In Persian with English Summary).
27. Santalla, M., Eseribano, M.R., and Ron, A.M. 1993. Correlations between agronomic and immature pod characters in population of French bean. *Abstract Plant Breeding* 63(4): 495.
28. Shafiee Khorshidi, M., Bihamta, M.R., Khialparast, F., and Naghavi, M.R. 2012. Comparison of some common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought tolerance. *Iranian Journal of Field Crop Science* 44(1): 95-107. (In Persian with English Summary).
29. Sharma, D., and Jodha, N.S. 1984. Pulse production in semi-arid region of India. *Proceedings of Pulses Production, Constraints and Opportunities*. pp. 241-265.
30. Upadhyaya, H.D., Bramel, P.J., and Singh, S. 2001. Development of a chickpea core collection using geographic distribution and quantitative traits. *Journal of Crop Sciences* 41: 206-210.

Evaluation of traits and drought tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes under well-watered and drought stress conditions

Gharajedaghi¹, F., Bihamta^{2*}, M.R., Peyghambari², S.A. & Rezaeinia⁴, M.

1. M.Sc., College of Agronomy, University of Tehran
2. Professor, College of Agronomy, University of Tehran
3. M.Sc., College of Agronomy, University of Tehran

Received: 19 December 2015

Accepted: 15 March 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.52302

Introduction

Pulse crops with 18-32% protein are the most important source of grain for human food. Protein of food legumes due to the presence of essential amino acids such as Lysine, have high nutritional value. Common beans are half of the beans used in the world, its grains rich in protein and carbohydrates. Common bean is very sensitive to weather conditions and soil quality and its performance even in short periods of stress. About two-thirds of the land under cultivation in Iran is in semi-arid areas, so the varieties with resistance to drought stress are the most important objectives of the breeding programs. Genetic diversity is the base for the selection of genotypes with desirable traits. In addition genetic resources have the fundamental role for agricultural development, as a source of useful genes for resistance to biotic and abiotic stresses and the development of genetic adaptation to environmental changes considered that the proper utilization of these varieties can be produced new and more desirable plants.

Materials & Methods

In order to evaluate genotypic and phenotypic variation and determine the relationship between grain yield with other traits in 35 common bean genotypes under normal and drought stress conditions, an experimental design was carried out in a randomized complete block design under two conditions in 2013 at the research field of college of Agriculture and natural resource of University of Tehran in Karaj state with latitude 35° and 56 minutes north and longitude 50° and 58 minutes east and 1112.5 m height above sea level. Treatments consisted of 33 common bean genotypes with three Khomein, Daneshkadeh and Goli Cultivars as control, were selected from the collections of College of Agriculture, University of Tehran, Karaj. Based on 30 years of data, mean annual precipitation of 243 mm and the test run of 47.7 mm rainfall during the growing season was over. Planting was done manually. Each plot consisted of three rows of two meters in length and with a spacing of 50 cm and 10 cm seeds space on the row and depth of planting was about five centimeters. Irrigation took place similar to both conditions at flowering stage, for seven days (Equivalent to 70 mm evaporation) and after the vegetative growth and loss of the risk sufficient to remove the bushes. Irrigation of water stress piece was performed each 11 days (Equivalent to 110 mm evaporation). Harvest was performed when 90% of plants were matured and the seven plants in compliance with marginal effect of each plot were collected to measure traits and then by using the mean yield genotypes per plot in non-stress (Y_{pi}) and stress conditions (Y_{si}), drought tolerance indices including, Mean Productivity, Geometric Mean Productivity, Harmonic Mean Productivity, Stress Tolerance Index, Stress Susceptibility Index, Tolerance Index, Yield Index, Yield Stability Index, Stress Intensity and yield reduction rate were calculated for each genotype.

*Corresponding Author: mrghanad@ut.ac.ir, Mobile: 09121594338

Results & Discussion

Results showed that among genotypes in the studied traits there were significant differences which displayed genetic variation among the genotypes. Based on the average of genotypes yield in normal conditions the highest and lowest seed yield pertained genotypes 27 and 12, respectively, and in the stress related to genotypes 32 and 12, respectively. According to the results of phenotypic correlations, stepwise regression, and path analysis in both normal and stress conditions, the traits of seed and pod weight, biological yield, number of seeds per plant, and number of seed per pod were the most important and effective traits affecting yield. The highest diversity was observed for these traits; therefore the selection of these traits can ideally improve the yield. Based on factor analysis, five factors were selected that the total variation were explained 83.76 and 80.79 percent under normal and drought stress conditions, respectively. The first and second factors were named yield and yield component factors. Geometric Mean Productivity, Harmonic Mean and Stress Tolerance Index, indices had the highest significant correlation with yield in both conditions, hence, were introduced as the best indices for screening tolerant genotypes. Based on biplot graph, genotypes 25, 27 and 28 were identified as tolerant genotypes with high yield, whereas genotypes 7, 10, 22 and 23 as drought-sensitive genotypes. Based on indicators STI, GMP, GMP, HRM and performance in normal and stress conditions, using Ward method genotypes were classified in three clusters 21 genotypes in first class, 3 genotypes in cluster II and 11 genotypes were in Cluster III and tolerant genotypes with the highest distance from sensitive genotypes (cluster I) in the third cluster.

Conclusion

Thus, according to genetic distance can be genotypes in breeding programs to produce hybrids with high yield and drought tolerance can be used.

Key words: Cluster analysis, Common bean, Factor analysis, Tolerance Indices

بهینه‌سازی انتقال ژن به عدس (*Lens culinaris Medik.*) با استفاده از آگروباکتریوم

فاطمه ذاکر تولایی^{۱*}، عبدالرضا باقری^۲، بهزاد قره‌یاضی^۳ و کایران کمار شارما^۴

۱- استادیار مجتمع آموزش عالی شیروان

۲- استاد دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

۴- دانشیار انستیتو تحقیقات بین‌المللی محصولات نیمه‌گرمسیری (ICRISAT)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۵

چکیده

عدس از جمله حبوبات مهم در ایران است که با توجه به وقوع تنش‌های مختلف در مناطق کشت آن در کشور، اصلاح آن جهت افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از اهمیت بسزایی برخوردار است. در این زمینه، کارایی استفاده از فناوری‌های نوین از جمله کشت این‌ویتر و انتقال ژن، قابل توجه می‌باشد. در این مطالعه بهینه‌سازی انتقال ژن به عدس با استفاده از ژن گزارشگر *gus* با واسطه آگروباکتریوم تومیفاشینس انجام شد. در این پژوهش اثر عواملی مانند نوع ریزنمونه، آنتی‌بیوتیک مورد استفاده، غلظت باکتری، مدت زمان کشت مشترک، تأثیر استوسرینگون، بر موفقیت تراریزش بررسی شدند. نتایج پژوهش نشان داد که ریزنمونه لپه شاخه‌دار شده روی محیط کشت دارای سیتوکنین پس از حذف سرشاخه‌ها یک ریزنمونه خوب برای فرایند انتقال ژن می‌باشد. غلظت پنج میلی گرم بر لیتر هیگرومایسین بهترین محیط انتخابی برای شاخه‌های تراریخته شناخته شد. غلظت چهار میلی لیتر از کشت شبانه باکتری در ۲۵ میلی لیتر محیط کشت مایع و مدت زمان ۷۲ ساعت کشت مشترک شرایط مناسب را برای انتقال ژن فراهم کرد. استفاده از استوسرینگون بر نتایج بی تأثیر بود. پس از کشت مشترک، شاخه‌زایی ریزنمونه‌ها روی محیط کشت انتخابی، ریشه‌زایی، سازگاری و انتقال به گلخانه انجام شد. آزمون هیستوشیمیایی *gus* در مرحله قبل از ریشه‌زایی بیان ژن *gus* را تأیید نمود. پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلخانه تأیید حضور ژن *gus* با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) روی نمونه‌های برگ انجام شد. امید است، نتایج این پژوهش برای اصلاح عدس از طریق مهندسی ژنتیک و همچنین استفاده از عدس به‌عنوان میزبان برای تولید ترکیبات دارویی مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: باززایی، ژن *gus*، عدس (*Lens culinaris Medik.*)، گیاه تراریخته، مهندسی ژنتیک

مقدمه

جهانی آن از ۰/۸۵ میلیون تن به ۴/۴۳ میلیون تن برسد. باوجود ۱۵۵ درصد افزایش در سطح زیرکشت و دوبرابر شدن عملکرد از ۵۲۸ کیلوگرم در هکتار به ۱۰۶۸ کیلوگرم در هکتار، اما همچنان در خیلی از کشورهای در حال توسعه این عملکرد پایین است (Rajendran et al., 2015). کشورهای عمده تولیدکننده عدس به ترتیب هند، استرالیا، کانادا و ترکیه می‌باشند که در مجموع بیش از ۷۳ درصد عدس دنیا را تولید می‌کنند (Bohra et al., 2014). از جمله محدودیت‌هایی که باعث کاهش عملکرد در عدس می‌شود، می‌توان به خشکی آخر فصل، تنش گرما، عدم حاصلخیزی خاک، بیماری‌هایی مانند برق‌زدگی، پژمردگی فوزاریومی، آنتراکنوز و آفات اشاره کرد (Kumar et al., 2013). جهت اصلاح عدس برای افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌توان از فناوری‌های نوین از

حبوبات از مهم‌ترین منابع پروتئینی در رژیم غذایی بسیاری از مردم کشورهای در حال توسعه می‌باشند. در بین حبوبات، عدس با داشتن درصد بالایی از پروتئین، کیفیت و ارزش غذایی خوب و هضم آسان از اهمیت خاصی برخوردار است و مصرف توأم آن با غلات، کمبودهای پروتئینی غلات را تکمیل می‌کند. علاوه بر آن، این گیاه سرشار از آهن، کلسیم، فسفر و ویتامین‌های تیامین و نیاسین بوده و برخی اسیدهای آمینه غیرمعمول مانند آل‌فا هیدروکسی آر‌نیتین، آل‌فا هیدروکسی آرژنین و هموآرژنین را نیز دارا می‌باشد. اهمیت غذایی عدس باعث شده است تا طی پنج دهه اخیر تولید

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۵۵۰۸۷۶۹۱، f.zaker.t@um.ac.ir

جمله مهندسی ژنتیک استفاده نمود. تکنیک انتقال ژن علاوه بر کمک به تولید واریته‌های مقاوم می‌تواند برای بهبود کیفیت گیاه و افزایش عملکرد ذاتی و همچنین در استفاده از عدس به عنوان میزبان برای تولید داروهای نو ترکیب به کار رود. لذا بهینه‌سازی انتقال ژن در عدس می‌تواند کاری ارزشمند باشد. تاکنون در اصلاح عدس، از روش‌های انتخاب، هیبریداسیون داخل گونه‌ای و بین گونه‌ای، موتاسیون و کشت درون شیشه‌ای بهره گرفته شده است.

توانایی تولید تومور توسط چهار نژاد آگروباکتریوم تومی فاشینس (*Agrobacterium tumefaciens*) در نوک ساقه و ریشه عدس تحت شرایط مزرعه، نخستین بار توسط Warkentin & McHughen (1991, 1993) گزارش شد. آن‌ها از تعدادی از انواع ریزنمونه‌ها از قبیل نوک ساقه، اپی کوتیل، ریشه و قطعات گره‌های کوتیلدونی برای آزمایش‌های تراریزش استفاده کردند. بیان موقت ژن *gus* در تمام مکان‌های زخم‌شده ریزنمونه‌ها به جز انتهای بریده‌شده ریزنمونه ریشه، در مجاورت گره کوتیلدولی مشاهده شد. در این مطالعه آگزیل‌ها (نقطه واقع در زاویه بین دمبرگ و ساقه‌ی) دمبرگ‌های کوتیلدونی به تراریزش پاسخی نشان ندادند. (Maccarrone et al, 1995) الکتروپوریشن همزمان DNA پلاسمیدی در پروتوپلاست‌های ریشه عدس را گزارش کردند. (Chowrira et al, 1995) تراریزش در گیاه را با استفاده از مریستم‌های گره‌ای سالم انجام دادند. در این مطالعه از ژن گزارشگر *gus* استفاده شد. (Öktem et al, 1999) آزمایش‌های تراریزش را با ریزنمونه‌های گره کوتیلدونی با استفاده از ژن *gus* با روش بمباران با تفنگ ژنی انجام دادند و وجود لکه‌های آبی رنگ را در بعضی از ریزنمونه‌های بمباران‌شده مشاهده کردند. (Mahmoudian et al, 2002) روش نسبتاً جدیدی را برای تراریزش عدس به کار بردند. آنان با استفاده از ریزنمونه‌های گره‌لپه‌ای، از تکنیک صافی خالص با واسطه آگروباکتریوم استفاده کردند. البته در این مطالعه هیچ باززایی انجام نشد و فقط بیان موقت ژن، آن هم در ریزنمونه‌های آلوده‌شده با باکتری مشاهده شد. (Gulati et al, 2001) با استفاده از ریزنمونه‌های گره‌لپه‌ای و با واسطه آگروباکتریوم و ژن‌های *hpt* (hygromycin phosphotransferase) و *nptII* (neomycin phosphotransferase II) انتقال ژن به عدس را بررسی کردند. ابتدا بیان ژن *gus* در ۳۰ درصد ریزنمونه‌ها مشاهده شد. اما وقتی ریزنمونه‌ها به محیط انتخابی حاوی کانامایسین برده شدند، همه آن‌ها از بین رفتند. آن‌ها نتیجه گرفتند که احتمالاً ژن نئومایسین فسفوترانسفراز، در عدس به میزان بسیار کم بیان شده و بنابراین در عدس نشانگر

انتخابی بسیار ضعیفی است. (Gulati et al, 2002) در مطالعه دیگری در تراریزش عدس با استفاده از تکنیک بمباران ژنی و بکاربردن گره‌لپه‌ای به عنوان ریزنمونه و با استفاده از ژن *hpt* به جای *npt II*، موفقیت بیشتری به دست آوردند. آنان همچنین توانستند با استفاده از تکنیک پیوند، ریزنمونه‌های تراریخته را روی گیاهچه‌های چهار-پنج روزه عدس پیوند کرده و بر مشکل اصلی باززایی عدس یعنی ریشه‌دهی فائق آیند. در این مطالعه نشان داده شد که پیوند ریزنمونه شاخه‌های عدس بر بسیاری از مشکلات ریشه‌دهی فائق آمده و مستقل از هورمون‌های رشد و رقم مورد استفاده عمل می‌کند. پیوند ریزنمونه باعث کاهش معنی‌دار در طول دوره باززایی و افزایش معنی‌دار در تولید گیاهان عدس باززایی شده داشت. آن‌ها در واقع مطالعه خود را بدون مرحله ریشه‌زایی به انجام رساندند و از ژن مقاومت به علف‌کش سولفونیل اوره یعنی ژن استولاکتات سینتاز (*als*) استفاده کردند. در این مطالعه پس از انجام بمباران ژنی، ریزنمونه‌ها برای تشکیل شاخه به محیط باززایی انتخابی منتقل شدند. بعد از دوهفته در محیط انتخابی همراه با ۵۰ نانومولار کلرسولفوران، تمایز جوانه‌های شاخه‌ای مشاهده شد. غلظت پنج نانومولار کلرسولفوران باعث تشکیل کالوس همراه جوانه‌های شاخه‌ای شد که مانع طویل شدن شاخه‌ها می‌شد. با کاهش غلظت کلرسولفوران به ۵/۲ نانومولار شاخه‌ها پس از چهار هفته توانستند کمی رشد کنند. فقط شاخه‌های سبز و سالم جدا شده و به گیاهچه‌های عدس پیوند زده شدند. آن‌ها موفق شدند با استفاده از این روش گیاهان با فنوتیپ نرمال و بارور تولید نمایند. آزمون مزرعه‌ای گیاهان T2 نیز انجام شد. اما بنا به گزارش آن‌ها به دلیل خشکی هوا و فقدان گره‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در گیاهان تراریخته، سبب شد که این گیاهان هیچ بذری تولید نکنند. البته این دلیل برای عدم تولید بذر هنوز مبهم است. (Sarker et al, 2003) توانایی تراریزش ریزنمونه‌های مختلف عدس شامل گره لپه‌ای، جنین سربردار شده، جنین نارس و اپی کوتیل را با استفاده از نژاد LBA4404 آگروباکتریوم مورد بررسی قرار دادند. بالاترین درصد بیان موقت ژن مربوط به ریزنمونه‌های اپی کوتیل و بعد از آن جنین سربردار شده بود. بیان موقت *gus* در ریزنمونه‌های جنینی نارس نسبتاً پایین بود. این پژوهشگران عقیده دارند که گره‌لپه‌ای قابلیت مستعد شدن برای تراریزش به وسیله آگروباکتریوم را ندارد، به این دلیل که باززایی شاخه‌های چندانگانه از مریستم‌هایی صورت می‌گیرد که در لایه داخلی ریزنمونه که در طرف دورتر از دسترس آگروباکتریوم وجود دارند، صورت می‌گیرد. این پژوهشگران نیز فقط تا مرحله شاخه‌زایی پیش رفته و حضور ژن *gus* را به وسیله PCR در

جهت تکثیر pCambia-130 ابتدا پلاسمید با استفاده از روش الکتروپوریشن وارد نژاد DH5 α باکتری *E. coli* شد. بعد از آن کلونی‌های باکتری تراریخته در پتری‌های حاوی محیط کشت جامد LB دارای ۵۰ میلی گرم بر لیتر کانامایسین، به صورت شبانه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. تک کلونی‌های رشد یافته در محیط مایع LB در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به صورت شبانه رشد داده شدند. سپس استخراج پلاسمید از این باکتری‌ها با استفاده از کیت انجام شد. پس از آن وجود پلاسمید استخراج شده توسط الکتروفورز تأیید شد. صحت پلاسمید نیز از طریق هضم به وسیله آنزیم‌های *PmlI* و *NcoI* و تفکیک قطعات روی ژل آگارز یک درصد با ولتاژ ۷۰ و رنگ آمیزی و رویت با دستگاه ژل داک تأیید شد.

پس از تأیید صحت پلاسمید، تراریزش آگروباکتریوم تومی فاشینس نژاد C58 با استفاده از روش الکتروپوریشن با استفاده از دستگاه کولای پالسر Bio-Rad انجام شد. بعد از تراریزش آگروباکتریوم و کشت آن روی پلیت حاوی کانامایسین، از تک کلونی‌ها، روی پلیت‌های جدید زیرکشت شده و برای تهیه مایه تلقیح جهت کشت مشترک استفاده شد. کشت آگروباکتریوم در محیط کشت YEB انجام گردید.

ریزنمونه جهت هم کشتی: برای انتخاب ریزنمونه مناسب از نتایج مطالعات قبلی (ZakerTavallaie et al., 2011) در مورد بهینه‌سازی باززایی عدس استفاده شد. لذا ریزنمونه لپه همراه قسمت بسیار جزئی از محور جنینی استفاده شد. قابل ذکر است که باززایی گیاهان تراریخته نیز دقیقاً طبق روش معرفی شده توسط (ZakerTavallaie et al., 2011) انجام شد. بدین ترتیب که بذور پس از شستشو، ابتدا با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سپس با استفاده از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد و ۲ قطره از توین ۲۰ به مدت هفت دقیقه ضد عفونی گردید. بذور پنج تا هفت بار با آب مقطر شستشو داده شدند و به مدت ۲ تا سه ساعت در آب مقطر استریل خیسانده شدند. سپس پوسته بذرها جدا شده و بذور بدون پوسته در محیط کشت MS غنی شده با چهار میکرومولار BAP به مدت یک هفته در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با فتوپریود ۱۶/۸ (تاریکی/نور) کشت داده شدند. سپس از گیاهچه‌های به دست آمده ریزنمونه لپه به همراه قسمت بسیار جزئی از محور جنینی تهیه شده و بر روی محیط کشت شاخه‌زایی MS غنی شده با ۷/۵ میکرومولار 2ip به اضافه چهار میکرومولار Kin و ۲ میکرومولار TDZ کشت داده شد و به مدت هشت روز در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با فتوپریود ۱۶/۸ (تاریکی/نور) قرار داده شدند. در این بین یک زیرکشت هم انجام شد. سپس ریزنمونه‌های دارای شاخه برای مدت هفت روز دیگر روی همین محیط، اما بدون

ریزنمونه‌های تراریخته تأیید کردند. (Akca et al, 2009) جهت تراریزش عدس از سه نژاد EHA105، C58C1 و KYRT1 آگروباکتریوم تومفاشینس استفاده کردند. گره کوتیلدونی به عنوان ریزنمونه استفاده شد. بیان موقت *gus* با استفاده از نژاد KYRT1 حدود ۲/۸ برابر دو نژاد دیگر گزارش شد. همچنین زخمی نمودن و استوسرینگون نیز مؤثر تشخیص داده شد. (Khatib et al, 2011) نیز ژن DREB1A را جهت ایجاد تحمل به علف کش با واسطه آگروباکتریوم به عدس منتقل کردند. این پژوهشگران از ریزنمونه جنین سربرداری شده استفاده کرده و شاخه‌های تراریخته را روی پایه‌های غیرتراریخته پیوند زدند. در این پژوهش با هدف بهینه‌سازی انتقال ژن به عدس با استفاده از ژن *gus* فاکتورهای مؤثر بر انتقال ژن مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت فرایند انتقال ژن به عدس بهینه‌سازی گردید. جهت بهینه‌سازی انتقال ژن از پلاسمید pCambia-1301 که دارای ژن گزینشگر مقاومت به هیگرومایسین و ژن گزارشگر *gus* می‌باشد استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این بررسی از عدس رقم گچساران (IL6212) که از نظر خصوصیات زراعی و سازگاری از اهمیت خاصی نسبت به دیگر رقم‌ها برخوردار بوده و در خراسان شمالی به طور وسیع کشت می‌گردد، استفاده شد. بذور مورد نظر از مرکز تحقیقات کشاورزی شیروان تهیه گردید.

آنتی بیوتیک مورد استفاده: با توجه به مطالعات قبلی که کانامایسین را جهت استفاده به عنوان ماده انتخابی برای انتخاب شاخه‌های تراریخته در عدس مناسب تشخیص نداده بودند (Gulati et al., 2002)، در این مطالعه از هیگرومایسین استفاده شده و غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی گرم بر لیتر از آن روی زنده‌مانی ریزنمونه‌های شاخه‌دار شده مورد مقایسه قرار گرفت.

باکتری و پلاسمید: در این آزمون از پلاسمید pCambia-1301 جهت بهینه‌سازی انتقال ژن به عدس استفاده شد. این پلاسمید ۱۸۴۹ جفت‌بازی دارای ژن گزارشگر *uidA* از باکتری *E. coli* با یک اینترون تحت پیش‌بر CaMV 35S و ترمیناتور نوپالین سنتتاز می‌باشد که از آن برای بررسی بیان ژن در گیاه استفاده می‌شود (شکل ۱-۴). این پلاسمید همچنین دارای ژن گزینشگر هیگرومایسین فسفوترانسفرز (*hpt*) تحت کنترل پیش‌بر و ترمیناتور CaMV 35S در قسمت T-DNA برای گزینش بافت گیاهی تراریخته و ژن گزینشگر مقاومت به کانامایسین برای انتخاب باکتری‌های تراریخته در قسمت بیرون از T-DNA خود می‌باشد.

در نهایت میزان شاخه‌های باززایی شده از محیط انتخابی در دو محیط مورد مقایسه قرار گرفت.

تعیین زمان مناسب هم‌کشتی: جهت تعیین مدت‌زمان مناسب جهت هم‌کشتی، دو مدت‌زمان ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج بررسی شد.

انتخاب گیاهان تراریخته احتمالی: استفاده از محیط انتخابی از یک هفته بعد از اتمام کشت مشترک شروع شد. بدین ترتیب که در مدت‌زمان حدود یک‌ماه، چهار زیرکشت انجام شد. در زیرکشت اول از سه میلی گرم درلیتر هیگرومایسین در محیط انتخابی استفاده شد و در هر زیرکشت مقدار آن اضافه گردید. در زیرکشت دوم از چهار میلی گرم درلیتر، در زیرکشت سوم و چهارم از پنج میلی گرم درلیتر هیگرومایسین استفاده شد. در طی این مدت نمونه‌ها در محیط کشت MS غنی شده با چهار میکرومولار 2ip و یک میکرومولار Kin رشد کردند. در طی هر زیرکشت نمونه‌های زرد و همچنین نکروزه که احتمالاً غیرتراریخته بودند، حذف شدند و فقط شاخه‌های سبز نگه داشته شدند. در شاخه‌های حاصل از هر ریزنمونه نیز کلاستر شاخه‌ها از هم جدا شده و پس از حذف شاخه‌های نامطلوب، بقیه شاخه‌ها در تیوب‌های جداگانه کشت شدند. در این مرحله شاخه‌ها جهت ارزیابی بیان ژن *gus* بررسی گردیدند.

ارزیابی بیان ژن *gus*: ارزیابی بیان ژن *gus* با استفاده از روش Hay et al, (1994) در مرحله قبل از ریشه‌زایی انجام شد. پس از تهیه محلول‌های لازم، نمونه‌ها به تیوب‌های حاوی محلول رنگ‌آمیزی X-Glue یک میلی مولار منتقل شده و در یک دستگاه خلأ به مدت پنج دقیقه گذاشته شد. تیوب‌های حاوی نمونه جهت رنگ‌آمیزی، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته شد. سپس نمونه‌ها از محلول قبلی خارج شده و در ارلن ۱۰۰ میلی لیتری دو بار با آب دیوارتقطیر شستشو شدند. یک بار نیز با اتانول ۷۰ درصد شستشو شده و سپس به مخلوط یک به سه استون-متانول منتقل شدند. سپس به مدت یک ساعت در چهار درجه سانتی گراد گذاشته شدند. دو تا سه بار این محلول عوض شد تا این‌که نمونه‌ها کاملاً بی‌رنگ شدند. نقاط آبی که نشان‌دهنده صحت انتقال ژن بود، زیر میکروسکوپ نوری مشاهده گردید.

ریشه‌زایی شاخه‌های تراریخته احتمالی: قبل از انتقال به محیط کشت ریشه‌زایی جهت اطمینان از عدم وجود باکتری، شاخه‌ها چند روز در محیط کشت بدون آنتی‌بیوتیک قرار داده شدند. پس از آن شاخه‌های طویل شده به محیط کشت ریشه‌زایی بدون آنتی‌بیوتیک منتقل شدند. بدین ترتیب که ابتدا به مدت سه روز در محیط کشت MS دارای ۵۰ میکرومولار NAA قرار داده شدند تا القای ریشه در شاخه‌ها صورت گیرد.

TDZ رشد کردند. در این هنگام برای تهیه ریزنمونه جهت کشت مشترک با آگروباکتریوم مناسب بودند. با توجه به نتایج ZakerTavallaie et al, (2011) این ریزنمونه در این مرحله قابلیت شاخه‌زایی خوبی داشت؛ ولی نحوه استفاده از آن در کشت مشترک برای انتقال ژن بررسی شد. بدین منظور دو روش تهیه ریزنمونه مقایسه شد: حذف کل شاخه‌ها از ریزنمونه و گذاشتن آن در محیط کشت مشترک پس از تلقیح با باکتری و حذف سر شاخه‌ها و نگه‌داشتن قسمت بیشتری از شاخه‌ها و گذاشتن آن در محیط هم‌کشتی پس از تلقیح با باکتری. پس از انجام آزمون روش برتر انتخاب و استفاده شد.

تهیه سوسپانسیون آگروباکتریوم جهت هم‌کشتی: ۴ روز بعد از کشت ریزنمونه در محیط شاخه‌زایی، از نمونه آگروباکتریوم حاوی پلاسמיד در ۲۰ میلی لیتر محیط کشت مایع YEB دارای ۵۰ میلی گرم بر لیتر کانامایسین، تلقیح انجام گرفت و جهت رشد در ۲۸ درجه سانتی گراد قرار داده شد. ۱۸ ساعت پس از رشد در انکوباتور، با استفاده از سانتریفیوژ آرام، باکتری‌ها از محیط کشت جدا شده و برای هم‌کشتی با ریزنمونه در محیط کشت مایع MS^{۱/۲} به صورت سوسپانسیون درآمد. OD باکتری در این سوسپانسیون برابر ۱/۱ بود.

غلظت مناسب سوسپانسیون باکتری در محیط کشت مایع MS^{۱/۲} با رقیق کردن مقادیر مختلف از کشت باکتری در ۲۵ میلی لیتر از کشت مایع MS^{۱/۲} تعیین گردید. در این مطالعه رقت‌های با OD ۰/۱۳، ۰/۱۸، ۰/۲۲ و ۰/۲۶ بررسی شدند. پس از ثبت نتایج بهترین غلظت تعیین گردید.

هم‌کشتی ریز نمونه و آگروباکتریوم: ریزنمونه‌های دارای شاخه حاصل از کشت ۱۴ روزه در محیط کشت شاخه‌زایی که دارای تعداد زیادی شاخه بودند، برای تهیه ریزنمونه مورد استفاده در کشت مشترک استفاده شدند. به این ترتیب که ابتدا سرشاخه‌های ریزنمونه‌ها قطع گردید و سپس ریزنمونه‌های بدون سرشاخه و دارای قسمت مرستمی به مدت فقط چند ثانیه در سوسپانسیون آگروباکتریوم قرار گرفتند. سپس این ریزنمونه‌ها بر روی محیط کشت شاخه‌زایی جدید به مدت سه روز قرار داده شدند. پس از سه روز به محیط کشت دارای ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر سفوتاکسیم جهت از بین بردن باکتری‌ها منتقل شدند.

اثر وجود استوسیرینگون (Acetosyringon) در محیط هم‌کشتی روی فراوانی تراریزش احتمالی: این آزمون با استفاده از ۶۰ ریزنمونه انجام شد. تعداد ۳۰ ریزنمونه پس از آغشته شدن در سوسپانسیون آگروباکتریوم در محیط شاخه‌زایی دارای ۲۰۰ میکرومولار استوسیرینگون برای کشت مشترک گذاشته شدند و ۳۰ ریزنمونه دیگر در محیط بدون استوسیرینگون کشت شدند.

اول انتقال به گلخانه، هر دو روز یکبار آبیاری انجام می‌گرفت، ولی بعد از مدتی هر چهار روز یکبار آبیاری انجام شد. هر ۱۰ روز یکبار نیز از محلول غذایی آرنون (Amon, 1938) برای آبیاری گلدها استفاده شد. پس از سه تا چهار ماه بذور برداشت گردید.

تجزیه و تحلیل (PCR (Polymerase Chain Reaction

حدود سه هفته بعد از انتقال گیاهان به گلخانه، DNA از بافت برگ تعدادی از گیاهان به روش Porebski *et al*, (1997) استخراج گردید. پس از تأیید و تعیین غلظت DNA، تراریخته‌بودن گیاهان با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR با استفاده از یک جفت آغازگر برای تکثیر قطعه ۸۱۹ جفت‌بازی از ژن *hpt* و همچنین یک جفت آغازگر برای تکثیر قطعه ۱۲ کیلوبازی از ژن *uidA* انجام شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده در ادامه آمده است.

پس از آن به مدت ۱۰ روز در مخلوط استریل محیط کشت مایع MS^{۱/۴} بدون ساکارز، همراه با ماسه و پرلیت جهت ظهور و رشد ریشه قرار داده شدند. شاخه‌های ریشه‌دار شده جهت توسعه ریشه و سازگاری با محیط بیرون به مدت یک هفته در سیستم کشت هیدروپونیک قرار داده شدند.

انتقال گیاهان تراریخته احتمالی به گلخانه: گیاهان پس از گذراندن یک هفته در سیستم آب‌کشت که طی آن با محلول غذایی آرنون تغذیه شدند، به گلخانه منتقل شدند. ریشه‌ها در محلول قارچ‌کش کربوکسین-تیرام فرو برده شده و بلافاصله در گلدان‌های با دهانه ۲۰ سانتی‌متر حاوی مخلوط ماسه و رس و اندکی کاه برنج ضد عفونی شده کشت شدند و به وسیله پاکت های پلاستیکی پوشانیده شدند. گوشه‌های قسمت بالای پاکت ها جهت هوادهی پس از سه روز بریده شد و پاکت‌ها پس از یک هفته به‌طور کامل از روی گیاه برداشته شدند. دمای گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و حداقل ۱۵ درجه سانتی‌گراد در شب که برای رشد گیاهان مناسب است، تنظیم شد. در روزهای

جدول ۱- توالی آغازگر ژن‌های *gus* و *hyg*
Table 1. primer sequence of *gus* and *hyg* genes

برگشت Reverse	رفت Forward	آغازگر Primer
5' GTT TAC GCG TTG CTT CCG CCA 3'	5' GGT GGG AAA GCG CGT TAC AAG 3'	<i>gus</i>
5' GGG GCG TCG GTT TCC ACT ATC G 3'	5' CGT TAT GTT TAT CGG CAC TTT G 3'	<i>hyg</i>

گرفته شد. جهت تعیین اندازه باندها از سایزمارکر ۱۰۰ bp استفاده شد.

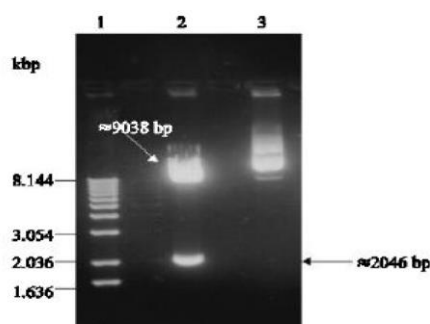
نتایج و بحث

غلظت مناسب آنتی‌بیوتیک: غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر هیگرومایسین تأثیری بر ریزنمونه‌های شاخه‌دار شده نداشت و همانند شاهد بود. با افزایش غلظت هیگرومایسین، مرگومیر ریزنمونه‌ها و نکروزه‌شدن آن‌ها افزایش یافت تا این‌که در پنج میلی‌گرم بر لیتر ریزنمونه‌ها کاملاً از بین رفتند.

تأیید صحت پلاسمید پس از استخراج از باکتری *E. coli* تراریخته‌شده در شکل ۱ نشان داده شده است. هضم پلاسمید با استفاده از آنزیم‌های برشی *Nco1* و *Pml1* که یک باند حدوداً ۲۰۴۶ جفت‌بازی از دومین اگزون ژن *gus* و یک باند ۹۰۳۸ جفت‌بازی تولید می‌نماید، انجام شد.

واکنش PCR با استفاده از ۵۰ نانوگرم DNA، ۵/۵ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرها، ۵/۵ میکرولیتر dNTP، ۵/۵ میکرولیتر Taq polymerase، ۲ میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۲/۵ میکرولیتر PCRbaffer 10 X و ۱۶/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر و در نهایت با حجم به ۲۵ میکرولیتر با این برنامه دمایی انجام شد. واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه و در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. دمای مرحله اتصال آغازگر با توجه به نوع آغازگر انتخاب شده و در تمام چرخه‌ها زمان یک دقیقه برای آن‌ها در نظر گرفته شد. مرحله بسط آغازگر نیز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت یک دقیقه برای تمام چرخه‌ها و ۱۰ دقیقه برای چرخه نهایی انتخاب شد. دمای اتصال برای ژن‌های *gus* و *hpt* به ترتیب، ۵۹ و ۵۸ درجه سانتی‌گراد بود.

محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۲ درصد با ولتاژ ۷۵ ولت تفکیک گردیده و سپس با استفاده از ژل‌داک از آن عکس



شکل ۱- ناقل هضم‌نشده و هضم‌شده پلاسمید pCambia-1301: ۱: سایز مارکر (Gibco-BRL) 1kb، ۲: نمونه پلاسمیدی استخراج‌شده از باکتری و هضم‌شده با آنزیم‌های برشی *Nco1* و *Pml1* که یک باند حدوداً ۲۰۴۶ جفت‌بازی از دومین اگزون ژن *gus* و یک باند ۹۰۳۸ جفت‌بازی تولید شده است، ۳: نمونه هضم‌نشده پلاسمید

Fig. 1. Digested and nondigested pCambia1301. 1: Size marker(Gibco-BRL); 2: Extracted plasmid from bacteria that was digested by *Nco1* and *Pml1* restriction enzymes containing two bands of 2046 bp and 9038 bp; 3: Nondigested plasmid

مقایسه با ریزنمونه نوع دوم بیشتر بود. در آزمون‌هایی که در این مورد با استفاده از ۵۰ ریزنمونه‌ها از هر نوع انجام گرفت (جدول ۲)، نهایتاً ریزنمونه نوع دوم که فقط سرشاخه‌های آن قطع شده بود، انتخاب گردید. با این وجود ریزنمونه نوع اول نیز برای انجام کشت مشترک قابل‌استفاده است. در این مطالعه ترجیحاً از ریزنمونه دوم استفاده شد. در واقع بعضی از ریزنمونه‌های نوع یک با این که خودشان در محیط انتخابی زنده ماندند، اما موفق به تولید شاخه مجدد نشدند. احتمالاً قسمت حذف‌شده شاخه‌ها خیلی زیاد بود. در ریزنمونه نوع دوم که سرشاخه‌ها حذف شد، در واقع فقط سرشاخه‌های شاخه‌هایی که رشد بیشتری داشتند و بلند بودند، حذف شده بود و تعداد شاخه زیادی که خیلی کوتاه بودند، سرشاخه آن‌ها حفظ می‌شد.

اثر وجود استوسیرینگون در محیط هم‌کشتی بر روی فراوانی تراریزش احتمالی

در این بررسی از ریزنمونه‌های کشت‌شده در محیط دارای استوسیرینگون ۶۶ درصد و از ریزنمونه‌های کشت‌شده در محیط فاقد استوسیرینگون ۶۳ درصد پس از یک ماه قرارگرفتن در محیط کشت انتخابی زنده ماندند. اگر چه کاربرد ۲۰۰ میکرومولار استوسیرینگون میزان زنده‌مانی شاخه‌های حاصل از هم‌کشتی را در محیط انتخابی را تا سه درصد افزایش داد، اما این میزان قابل‌توجه نیست.

تعیین غلظت مناسب اگر وباکتریوم در سوسپانسیون مورد استفاده برای کشت مشترک

رقت $OD = 0.26$ از سوسپانسیون باکتری در $MS \frac{1}{2}$ ، سبب محاصره ریزنمونه با باکتری در حال تکثیر و مرگ ریزنمونه گردید و در رقت $OD = 0.22$ هم تا حدی این مشکل مشاهده شد. اما با رقت $OD = 0.18$ و $OD = 0.13$ مرگ‌ومیری در ریزنمونه‌ها مشاهده نشد. اما جهت کارایی بهتر تراریزش از رقت $OD = 0.18$ استفاده شد.

در تهیه ریزنمونه به دو صورت عمل شده بود که هر دو مورد جواب مثبت داد. ولی تیمارهای شاخه‌زایی متفاوتی برای دو نوع ریزنمونه مورد نیاز بود. ریزنمونه‌هایی که قسمت اعظم شاخه‌های آن‌ها قطع شده بودند، پس از کشت مشترک نیاز به شاخه‌زایی مجدد داشتند. یعنی پس از طی هفت تا ۱۰ روز کشت در محیط القای شاخه‌زایی، به محیط کشت طویل‌شدن منتقل شدند. اما در مورد ریزنمونه‌هایی که فقط سرشاخه‌های آن‌ها زده شده بود، پس از سه روز هم‌کشتی یک هفته در محیط کشت MS بدون هورمون کشت شدند و پس از آن وارد محیط کشت طویل‌شدن شدند. این ریزنمونه‌ها نیازی به شاخه‌زایی مجدد نداشتند. ریزنمونه اول از لحاظ درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در محیط انتخابی موفق‌تر بود، ولی ریزنمونه دوم موفقیت شاخه‌زایی و بقای بالاتری داشت. در ریزنمونه‌های نوع اول، شاخه‌زایی مجدد بعد از حذف شاخه‌ها به آسانی صورت نمی‌گرفت. ولی احتمال تراریخته‌بودن همان تعداد شاخه تولیدشده در

جدول ۲- نتایج به‌دست‌آمده از هم‌کشتی دو نوع ریزنمونه با آگروباکتریوم

Table 2. Results of co-cultivation of two type explants with *Agrobacterium*

درصد زنده‌مانی (بر اساس تعداد شاخه) Percentage of survival (based on shoot number)	درصد زنده‌مانی (بر اساس تعداد ریزنمونه) Percentage of survival (based on explant number)	تعداد کل شاخه‌های زنده و سبز یک ماه بعد از قرارگرفتن در محیط انتخابی No. of green and survived shoots after one month in selective medium	تعداد ریزنمونه‌های زنده پس از یک ماه قرارگرفتن در محیط انتخابی No. of survived explants after one month in selective medium	تعداد ریزنمونه مورد استفاده No. of explant	نوع ریزنمونه مورد استفاده Type of explant
68	90	34	45	50	ریزنمونه بدون شاخه Explant without shoots
80	70	40	35	50	ریزنمونه با شاخه Explant with shoots



شکل ۲- ریزنمونه مورد استفاده در کشت مشترک با سوسپانسیون آگروباکتریوم

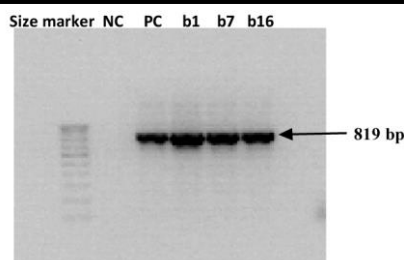
Fig. 2. Employed explants in co-cultivation with *Agrobacterium* suspension

سوسپانسیون مورد استفاده در کشت مشترک، باعث شد که ریزنمونه در مدت سه روز کشت مشترک ریزنمونه کاملاً سالم بماند. تفاوت قابل توجهی بین مدت‌زمان ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت از لحاظ درصد زنده‌مانی شاخه‌ها در محیط انتخابی مشاهده نشد. دلیل نبودن تفاوت بین ۷۲ و ۴۸ ساعت این است که کارایی باکتری در واقع در همان روز اول است و هرچه در توان داشته باشد، در همان مدت اعمال می‌کند. در صورت استفاده از کشت مایع ممکن است زمان کمتر هم کافی باشد، اما به دلیل این که از کشت جامد استفاده شده بود و مشکلی هم در رابطه با سلامت ریزنمونه وجود نداشت، از ۷۲ ساعت استفاده شد. در واقع شاخه‌های حاصل از ریزنمونه‌های هم‌کشت‌شده با آگروباکتریوم، مرحله طویل شدن خود را در محیط انتخابی گذراندند. در این مدت در هر زیرکشت، شاخه‌های زردشده حذف شد و شاخه‌های سبز و نرمال به محیط انتخابی جدید حاوی هورمون‌های مرحله

در واقع تأثیر مثبت ترکیب فنلی استوسرینگون به دلیل این است که فنل ژن‌های *vir* را فعال نموده و فرایند انتقال T-DNA را به سلول گیاهی تسریع می‌نماید (Sheikholeslam & Weeks, 1987)، اما از آنجاکه ترکیبات فنلی به میزان زیاد در عدس یافت می‌شود، خود این ترکیبات فرایند تراریزش را تحت تأثیر قرار می‌دهند و کاربرد استوسرینگون خارجی لزومی ندارد.

مدت‌زمان مناسب برای کشت مشترک

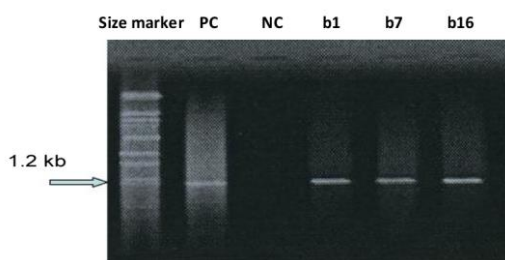
هر دو مدت‌زمان ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت برای دوره هم‌کشتی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج رضایت‌بخشی دربر داشت. در مورد استفاده از مدت‌زمان ۷۲ ساعت این نگرانی وجود داشت که رشد سریع باکتری‌های موجود روی ریزنمونه در محیط کشت زیاد بوده و باعث آسیب‌زدن به ریزنمونه شود. اما کاربرد میزان کم از کشت باکتری (چهار میلی‌لیتر) در



شکل ۴- الف) تکثیر قطعه ۱/۲ کیلوبازی از ژن *uidA* در DNA گیاهان تراریخته احتمالی با استفاده از پلاسمید pCambia-1301 از راست به چپ: سایز مارکر، کنترل مثبت (پلاسمید)، کنترل منفی (DNA گیاه غیر تراریخته)، گیاهان تراریخته احتمالی b1، b7 و b16.

Fig. 4A. Amplified fragment of 1.2kb from *uidA* gene in putative transgenic lentil

Right to left: size marker, positive control (plasmid), negative control (non transgenic plant), putative transgenic plants of b1, b7 and B16



شکل ۴- ب) تکثیر قطعه ۸۱۹ جفت‌بازی از ژن *hpt* در DNA گیاهان تراریخته احتمالی با استفاده از پلاسمید pCambia_1301 از راست به چپ: سایز مارکر، کنترل منفی (DNA گیاه تراریخته)، کنترل مثبت (پلاسمید)، گیاهان تراریخته احتمالی b1، b7 و b16.

Fig. 4B. Amplified fragment of 819 bp from *hpt* gene in putative transgenic lentil

Right to left: size marker, negative control (nontransgenic plant), positive control (plasmid), putative transgenic plants of b1, b7 and B16

از این ریزنمونه‌ها گره لپه‌ای، جنین سربرداری شده و گره کوتیلدونی بهتر از بقیه به تراریزش پاسخ داده‌اند. در هیچ‌یک از مطالعات قبلی از ریزنمونه مورد استفاده در این تحقیق استفاده نشده است. هرچند در بعضی از مطالعات قبلی گیاهان تراریخته هم تولید شده است، اما در هیچ‌کدام پژوهشگران موفق به انجام ریشه‌زایی از شاخه‌های تراریخته نشده‌اند. در مواردی که به گیاه کامل دست پیدا کرده‌اند، از تکنیک ریزپیوندی شاخه‌های تراریخته روی پایه غیر تراریخته استفاده شده است (Gulati et al., 2002; Sarker et al., 2003 & Akie et al., 2009). اهمیت ریزنمونه مورد استفاده در این مطالعه این است که علاوه بر مناسب بودن برای تراریزش به لحاظ وجود مقدار زیاد

طول شدن یعنی چهار میکرومولار 2ip و یک میکرومولار kin با غلظت بیشتری از هیگرومایسین منتقل شدند. غلظت هیگرومایسین از سه میلی گرم در لیتر در اولین واکشت تا پنج میلی گرم در لیتر در واکشت‌های بعدی استفاده شد.

ارزیابی GUS

ارزیابی ژن *gus* به عنوان ژن گزارشگر در مرحله قبل از ریشه‌زایی انجام شد. نمونه برگ‌ی مورد آزمون با جواب مثبت در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳- نمونه برگ‌ی با جواب مثبت در آزمون GUS

Fig. 3. Histochemical GUS staining of putative transgenic shoots

تجزیه و تحلیل PCR

واکنش PCR منجر به تکثیر یک قطعه ۱/۲ کیلو بازی از ژن *uidA* (شکل ۴- الف) و یک قطعه ۸۱۹ جفت‌بازی برای ژن *hpt* (شکل ۴- ب) در گیاهان تراریخته احتمالی گردید. در ضمن از شاهد مثبت (پلاسمید) و شاهد منفی (گیاه غیر تراریخته) برای کنترل صحت واکنش PCR و اطمینان از عدم آلودگی استفاده شد.

وجود ژن *uidA* از طریق PCR در گیاهان تراریخته تأیید شد (شکل ۴- الف). همچنین با استفاده از آغازگرهای مرتبط با ژن *hpt* وجود این ژن نیز در گیاهان تراریخته با استفاده از PCR تأیید گردید (شکل ۴- ب).

در مطالعات قبلی از ریزنمونه‌های نوک ساقه، ریشه و قطعات گره‌های (Warkentin & McHughen, 1991, 1993 & Akie et al., 1999 & Mahmoudian et al., 2002, 2009)، گره کوتیلدونی (Gulati et al., 2002 & Sarker et al., 2003)، جنین سربرداری شده و جنین نارس (Sarker et al., 2003) و اپی کوتیل (Warkentin & McHughen, 1991, 1993 & Sarker et al., 2003) استفاده شده است.

al, (2002) استفاده از کانامایسین به‌عنوان عامل انتخابگر باعث از بین رفتن تمام ریزنمونه‌ها شد. آن‌ها بیان کردند که چون میزان بیان ژن نئومایسین فسفو ترانسفراز در عدس بسیار پایین است، این اتفاق افتاده است. البته در مطالعه حاضر در بخش مقدماتی مقایسه‌ای بین کانامایسین و هیگرومایسین انجام شد که هیگرومایسین مناسب‌تر تشخیص داده شد (نتایج در این مطالعه نشان داده نشده است). لذا از هیگرومایسین به‌عنوان عامل انتخابگر استفاده شد.

بدین ترتیب با تأیید تراریخته‌بودن گیاه در مرحله گلخانه، تراریزش عدس با استفاده از آگروباکتریوم به‌طور کامل بهینه سازی شد. امید است نتایج این پژوهش بتواند برای انجام پژوهش‌های آینده در اصلاح عدس و همچنین استفاده از آن به‌عنوان میزبان برای تولید ترکیبات دارویی و مفید با استفاده از مهندسی ژنتیک مفید واقع شود.

بافت مرستمی، قابلیت خوبی هم برای باززایی دارد و طبق گزارش ZakerTavallaie et al, (2011) از هر ریزنمونه حداکثر تا ۴۰ شاخه تولید شده است و شاخه‌ها نیز ریشه‌دهی خوبی داشته‌اند. در این مطالعه نیز شاخه‌دهی و ریشه‌زایی خوبی مشاهده شد. در مطالعه (Akcie et al., 2009) وجود استوسرینگون در موفقیت تراریزش مؤثر تشخیص داده شد، اما در این مطالعه تأثیری بر میزان تراریزش نداشت. دلیل آن می‌تواند محتوای بالای فنلی در عدس باشد که نیاز به استوسرینگون را مرتفع می‌سازد. البته نوع ریزنمونه و روش تراریزش و احتمالاً ژنوتیپ هم ممکن است باعث تفاوت نتیجه در مطالعه حاضر و مطالعه (Akcie et al, (2009 باشد. زیرا ممکن است محتوی فنل در بافت‌های مختلف گیاه متفاوت باشد. همچنین میزان زخم‌شدن در زیرنمونه هم میزان نیاز به استوسرینگون را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در مطالعه Gulati et

منابع

1. Akcay, U.C., Mahmoudian, M., Kamci, H., Yucel, M., and Oktem, H.A. 2009. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of a recalcitrant grain legume, lentil (*Lens culinaris* Medik). Plant Cell Report 28: 407-417.
2. Bohra, A., Pandey, M.K., Jha, U.C., Singh, B., Singh, I.P., Datta, D., Chaturvedi, S.K., Nadarajan, N., and Varshney, R.K. 2014. Genomics-assisted breeding in four major pulse crops of developing countries: present status and prospects. Theoretical and Applied Genetics 127: 1263-1291.
3. Chowrira, G.M., Akella, V., and Lurquin, P.F. 1995. Electroporation-mediated gene transfer into intact nodal meristems *in planta*. Generating transgenic plants without *in vitro* tissue culture. Molecular Biotechnology 3: 17-23.
4. Gulati, A., Schryer, P., and McHughen, A. 2001. Regeneration and micrografting of lentil shoots. *In vitro* Cellular and Development Biology 37: 798-802.
5. Gulati, A., Schryer, P., and Mchughen, A. 2002. Production of fertile transgenic lentil (*Lens culinaris* Medik.) plants using particle bombardment. *In vitro* Cellular and Development Biology-Plant 38: 316-324.
6. Hay, I., Lachance, D.A., Von Aderkas, P., and Charest, P.J. 1994. Ransient chimeric gene expression in pollen of five conifer species following microparticle bombardment. Canadian Journal of Forest Research 24(12): 2417-2423.
7. Khatib, F., Makris, A., Yamaguchi-Shinozaki, K., Kumar, S., Sarker, A., Eroskine, W., and Baum, M. 2011. Expression of the DREB1A gene in lentil (*Lens culinaris* Medik. subspculinaris) transformed with the *Agrobacterium* system. Crop Pasture Science 62: 488-495.
8. Kumar, S.K., Barpete, S., Kumar, J., Gupta, P., and Sarker, A. 2013. Global lentil production: constraints and strategies. SATSAMukhapatra. Annual Review of Information Science and Technology 17: 1-13.
9. Maccarrone, M., Veldink, G.A., Finazzi, A.A., and Vliegenthart, J.F. 1995. Lentil root protoplasts: a transient expression system suitable for coelectroporation of monoclonal antibodies and plasmid molecules. Biochimicaet Biophysica Acta 1243: 136-142.
10. Mahmoudian, M., Yucel, M., and Oktem, H.A. 2002. Transformation of lentil (*Lens culinaris* Medik.) cotyledonary nodes by vacuum infiltration of *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Molecular Biology Reports 20: 251-257.
11. Öktem, H.A., Mahmoudian, M., Eyidoğan, F., and Yücel, M. 1999. Gus gene delivery and expression in lentil cotyledonary nodes using particle bombardment. Lens Newsletter 26: 3-6.
12. Porebski S., Bailey L.G., and Baum, B.R. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter 15: 8-15.

13. Rajendran, S.K., Kumar, J., Hamwieh, A., and Baum, M. 2015. Current knowledge in lentil genomics and its application for crop improvement. *Front Plant Science* 6: 78-90.
14. Sarker, R.H. ,Biswas, A. , Mustafa, B.M. ,Mahbub, S., and Hoque, M.I. 2003. Agrobacterium-mediated transformation of lentil. *Plant Tissue Culture* 13: 1-12.
15. Sheikholeslam, S.N., and Weeks, D.P. 1987. Acetosyringone promotes high efficiency transformation of *Arabidopsis thaliana* explants by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Molecular Biology* 8: 291-308.
16. Warkentin, T.D., and McHughen, A. 1993. Regeneration from lentil cotyledonary nodes and potential of this explant for transformation by *Agrobacterium tumefaciens*. *Lens Newsletter* 20: 26-28.
17. Zaker Tavallaie, F., Ghareyazie, B., Bagheri, A., and Sharma, K.K. 2011. Lentil regeneration from cotyledone explant bearing a small part of the embryo axis. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 21: 169-180.

Optimization of genetic transformation in Lentil (*Lens culinaris* Medik.) using *Agrobacterium tumefaciens*

Zaker Tavallaie^{1*}, F., Bagheri², A., Ghareyazie³, B. & Sharma⁴, K.K.

1. Assistant professor, Complex Higher Education of Shirvan

2. Professor, College of Agriculture & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

3. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII)

4. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT)

Received: 19 January 2016

Accepted: 13 April 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.52960

Introduction

Lentil (*Lens culinaris* Medik.) may have been one of the first agricultural crops grown more than 8,500 years ago and belongs to genus *Lens* from family leguminous and it is diploid ($2n=14$). Lentil is a seed propagating, self-pollinating crop originating from Near East. Lentil contains high percentage of protein, and has high nutrient value and easy digestibility. Genetic engineering has high potential to improve tolerance of lentil against biotic and abiotic stresses. Genetic engineering may also have a role in eliminating anti-nutritional factors and improving the nutritional quality of lentil proteins. Lentil can also be employed as host to produce drug using gene transformation. To date only a few reports are available on attempts to transform lentil. In this research we attempted to optimize conditions of gene transformation in lentil.

Materials & Methods

Seeds of lentil (*Lens Culinaris* Medik) variety of Gachsaran (ILL6212) were used in present investigation, collected from Shirvan Agriculture Research Center, northeast of Iran. The Explants of Cotyledon with slight part of Embryo Axes (CEA) were prepared as described in Zakertavallaie *et al*, (2011) study. The explants were kept on Shoot Induction Media (SIM) including MS media supplemented with 7.5 μ M 2ip, 4 μ M Kin and 2 μ M TDZ for 8 days. Then explants containing shoots sub cultured on MS media for another 7 days. 15 days explants containing shoots were used for co-cultivation with *Agrobacterium*. *Agrobacterium tumefaciens* strain C58 containing binary vector of pCambia1301 was used for transformation experiments. This plasmid contains a reporter gene *gus* and a selectable gene *hptII*, into T-DNA for selection of putative transgenic shoots and selectable marker gene *nptII* to select transformed bacteria in backbone sequence. Suspension of agrobacterium in 1/2 MS with 4 concentration of OD: 0.13, OD: 0.18, OD: 0.22 and OD: 0.26 was compared to use in co-cultivation media. Explants containing shoots were used for co-cultivation. There was compared two type of preparation of explants to use in co-cultivation. About some of explants, only tip of the shoots removed using scalpel but about some of them almost of shoots removed. All of explants were submerged in *Agrobacterium* suspension for 2 second and were co-cultured on shoot induction media. Co-cultivated explants containing shoots were cultured on MS media containing 250mg/lit cefotaxim for 7 days. In this stage shoots transferred to elongation media including MS supplemented with 4 μ M 2ip and 1 μ M Kin containing 3 mg/L hygromycine to select transgenic shoots and 200 mg/lit cefotaxim to kill bacteria. The hygromycine was increased with each subculture at 7 days intervals up to 5 mg/lit and the non-health and non-green shoots were discarded in each subculture.

*Corresponding Author: f.zaker.t@um.ac.ir, Mobile: 09155087691

Elongation of shoots, rooting, hardening and glasshouse growth was done according to Zakertavallaie *et al.*, (2011) protocol. Gus assay carried out before root induction using Hay *et al.* (2004) protocol and Blue dot were observed under microscope. DNA was extracted from leaves of both non transgenic and putative transgenic plants using modified CTAB protocol. DNA was subjected to Polymerase change reaction using the *hyg* and *gus* primers with. PCR was carried out with following condition: PCR reaction mix of 25 μ l contained 2 μ l genomic DNA (100ng/ μ l), 2.5 μ l 10X buffer, 2 μ l $MgCl_2$ (50mM), 0.5 μ l dNTP (10Mm) and 0.5 μ l Taq DNA polymerase (5u/ μ l). The concentration of primers were also 100 pmol/ μ l. in PCR amplification DNA denatured at 94°C for 5 min then followed by 35 cycles with 1 min at 94°C, 1 min at annealing temperature (for *gus* gene at 58 °C and for *hpt* gene at 59 °C), 1 min at 72 °C. final extension was carried out at 72 °C for 10 min. PCR product was run on 1.2% agarose gel and observed under UV after staining with ethidium bromide.

Results & Discussion

Explants after shoot induction were prepared for co-cultivation. Co-cultivation period was 72 hours. Concentration of Agrobacterium was important. Acetoceringone has no effect on success of gene transformation. Concentrations of 3 to 5 mg/lit hygromycine were suitable for selection media in shooting stage. Gus assay confirmed gene transformation in putative transgenic shoots. Also PCR reaction confirmed existence of *gus* and *hpt* genes in plants.

Conclusion

The employed protocol in this research can be used for gene transformation of lentil using another gene to improve it about other treats such as enhancement of tolerance to biotic and abiotic stresses.

Key words: Genetic engineering, Gus gene, Lentil (*Lens culinaris* Medik.), Regeneration, Transgenic plant

اثر مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش (*Vigna radiate*)

فاطمه خمدی^{۱*}، موسی مسگرباشی^۲، پیمان حسینی^۲، معصومه فرزانه^۳ و نعیمه عنایتی ضمیر^۴

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه شهید چمران اهواز، رشته مهندسی کشاورزی، گرایش زراعت

۲- دانشجویان گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز

۴- استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۵

چکیده

به منظور بررسی اثر مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و سطوح مختلف کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش، پژوهشی در سال ۱۳۹۳ در شرایط آب‌وهوایی اهواز در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران به صورت اسپلیت پلات با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از مقادیر مختلف بقایای کاه و کلش گندم در پنج سطح (صفر، ۱۷۵۰، ۳۵۰۰، ۵۲۵۰ و ۷۰۰۰ کیلوگرم در هکتار) که به عنوان کرت اصلی و کود نیتروژن از منبع اوره در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) که به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و سطوح کود نیتروژن اثر معنی‌داری بر عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و ارتفاع بوته داشتند، به طوری که بیشترین عملکرد دانه از تیمار ۳۵۰۰ و ۷۰۰۰ کیلوگرم در هکتار کاه و کلش گندم حاصل شد. با افزایش کاربرد کود نیتروژن تا سطح ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار، عملکرد و اجزای عملکرد ماش افزایش یافت. کود نیتروژن در ابتدای رشد موجب شکل‌گیری سریع کانوپی و افزایش سطح برگ شد که منجر به پوشش سطح خاک می‌شود و کود سرک نیتروژن باعث دوام سطح سبز و طول مدت گلدهی و پُرسیدن دانه می‌شود. اثر متقابل بقایا و کود بر عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و تعداد غلاف در بوته معنی‌دار شد و بیشترین این ویژگی‌ها از تیمار ۳۵۰۰ کیلوگرم در هکتار کاه و کلش گندم توأم با ۲۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: تثبیت زیستی نیتروژن، علف‌هرز، مدیریت پایدار سیستم زراعی

مقدمه

هرساله بخشی از زمین‌های زیرکشت گندم و سایر غلات، بعد از برداشت محصول سوزانده می‌شود. هدف از این عمل، سهولت بیشتر در تهیه زمین، رفع موانع در سبز شدن بذرها و جلوگیری از متوقف شدن نیتروژن، فروش کاه و یا به بهانه مبارزه با آفات و بیماری‌ها است (Aulakh et al., 2012; Blanco-Canqui et al., 2009). سوزاندن بقایای گیاهی باعث تلفات ۸۰ درصدی نیتروژن، ۲۵ درصدی فسفر، ۲۱ درصدی پتاسیم و ۴۰ تا ۶۰ درصدی گوگرد شده، حشرات مفید و میکروارگانیسم‌های خاک را از بین می‌برد (Aulakh et al., 2012). در حالی که تجزیه بقایای گیاهی اضافه شده به خاک علاوه بر افزایش حاصلخیزی و برگشت عناصر غذایی به خاک، ساختمان و کیفیت خاک را نیز بهبود می‌بخشد که گاه اهمیت آن‌ها در بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک، مهم‌تر از اثرات آن‌ها در

بقایای گیاهی، یک نهاده درون‌مزرعه‌ای مهم به‌شمار می‌رود که برای چند دهه است جهت پایدارسازی اکوسیستم‌های کشاورزی مدنظر قرار گرفته‌اند. دسترسی به مدیریت پایدار منابع محیطی این الزام را ایجاد می‌کند که اتکای مزارع به نهاده‌های برون‌مزرعه‌ای را کاهش داده و در جهت فرآیند و مصرف نهاده‌های درون‌مزرعه‌ای و کاهش تلفات منابع قابل استفاده اقدام کرد (Aulakh et al., 2012; Monsefia et al., 2011; Mrabet, 2014). فعالیت‌های کشاورزی در بسیاری از نقاط جهان باعث کاهش ماده آلی خاک، کاهش متوالی حاصلخیزی فیزیکی و شیمیایی خاک و باعث کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌شوند (Mohammad et al., ۲۰۱۶).

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۶۸۹۸۵۶۷۷، stu.agri@chmail.ir

نیتروژن و فسفر عنوان کردند که منجر به افزایش عملکرد می‌شود. (Verma et al, 2013) افزودن کود نیتروژن ۳۰ درصد بالاتر از توصیه کودی همزمان با افزودن کاه و کلش با حجم بالا به خاک را منجر به پوسیدگی بهتر بقایا و بهبود نسبت C/N خاک و افزایش فعالیت میکروبی دانستند. کود نیتروژن موجب افزایش راندمان فتوسنتزی و کارایی بالاتر استفاده از نور می‌شود که بر عملکرد و اجزای عملکرد اثرگذار است. (Mohammadzadeh et al, 2008) عنوان داشتند که کاربرد کود نیتروژن هنگام کاشت موجب افزایش رشد رویشی و عملکرد دانه لوبیا شد و این افزایش عملکرد نیز موجب بالارفتن شاخص برداشت گردید. (Kashfi et al, 2011) اظهار داشتند که کود نیتروژن منجر به افزایش تجمع ماده خشک در قسمت های رویشی و انتقال مواد فتوسنتزی از بخش‌های رویشی به زایشی می‌شود که منجر به بهبود دانه‌بندی و افزایش عملکرد دانه می‌شود. (Shen et al, 2001) اثر کاه و کلش گندم در مقادیر متفاوت را منجر به افزایش ارتفاع بوته و ماده خشک ماش زراعی دانستند. (Bunna et al, 2011) اثر کلش حاصل از کاشت برنج را منجر به افزایش عملکرد دانه ماش، بالارفتن کارایی مصرف آب و کنترل علف‌های هرز عنوان کردند.

ماش گیاهی است که از دیرباز در مناطق خشک و نیمه خشک هندوستان، ایران و دیگر نقاط خاورمیانه کشت می‌شده است. ماش به‌علت دوره رشدنمو کوتاه، قابلیت تثبیت نیتروژن هوا، تقویت زمین و جلوگیری از فرسایش خاک بر سایر گیاهان به‌منظور کشت دوم برتری دارد. دانه ماش به‌واسطه داشتن ۲۵ درصد پروتئین و ۳۴۰ کالری انرژی که از مصرف ۱۰۰ گرم دانه خشک آن حاصل می‌شود، از منابع تأمین‌کننده پروتئین گیاهی برای انسان به‌شمار می‌رود. ماش از معمولی‌ترین گیاهانی است که در اکثر مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری ایران بعد از برداشت گندم کشت شده و قبل از شروع کشت پاییزه برداشت می‌شود (Majnoon Hoseini, 2008). بنابراین، بررسی عوامل زراعی مؤثر بر عملکرد و رشد این گیاه به‌منظور تولید بالاتر آن باید مورد توجه قرار گیرد. این آزمایش به‌منظور بررسی اثر مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و سطوح متفاوت کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌منظور بررسی سطوح مختلف کاه و کلش گندم و مقادیر متفاوت کود نیتروژن در مزرعه آموزشی-پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران اهواز در تابستان ۱۳۹۳ اجرا شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی عبارت

تأمین نیازهای غذایی گیاه زراعی است (Pandiaraj et al., 2009; Bakht et al., 2015) به‌نحوی که بسیاری از خصوصیات خاک از جمله حاصلخیزی، دما، ساختمان، فرسایش، نفوذپذیری و هدایت هیدرولیکی خاک‌ها تحت تأثیر بقایای گیاهی بهبود یافته و تأثیر آن‌ها در محافظت خاک در مقابل فرسایش بادی و آبی، افزایش ذخیره آب و کاهش نوسانات دمایی خاک و تعادل عناصر غذایی در گیاه و خاک و افزایش عملکرد گیاه زراعی قابل‌توجه می‌باشد (Ramakrishna et al., 2006; Mohammad et al., 2012; Marraccini et al., 2014).

در تحقیقی که به‌مدت چهار سال در شرایط آب‌وهوایی نیمه‌گرمسیری به‌منظور ارزیابی اثرات روش های خاک‌ورزی، حفظ بقایای گیاهی و کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم در مزارع تحت تناوب سویا-گندم انجام شد، مشخص گردید که کاربرد بقایای گیاهی همراه با استفاده از کودهای پرمصرف (۲۵ درصد بیشتر از توصیه کودی) در شرایط خاک‌ورزی حفاظتی منجر به کاهش درجه حرارت، افزایش ذخیره رطوبتی خاک و بهبود جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش تولید و عملکرد سویا گردید (Aulakh et al., 2012; Monsefia et al, 2014) اظهار داشتند که مدیریت بقایای گیاهی می‌تواند باعث حفظ کربن موجود در خاک‌های کشاورزی شود. به‌طور کلی باید مدیریت به سمت حفظ بقایا در مقادیر زیاد، استفاده از گیاهان علوفه‌ای-زراعی، حذف دوره‌های آیش و کاهش ضخیم جهت داده شود، تا وضعیت کربن در خاک بهبود یابد. به‌نحوی که سهم بقایا در آزادکردن عناصر غذایی به ایجاد هم‌زمانی بین آزاد شدن عناصر غذایی و تقاضای مواد توسط محصول بستگی دارد و ایجاد این هم‌زمانی در به‌حداقل رساندن ازدست‌رفتن عناصر غذایی نقش به‌سزایی دارد. (Tsuji et al, 2006) عنوان داشتند که حفظ بقایای گیاهی منجر به افزایش ۱/۳۱ برابری عملکرد دانه سویا و ۱/۳۹ برابری عملکرد کاه در کشت سویا شد.

در مناطق گرم‌وخشک استان خوزستان و با توجه به کمبود و کاهش منابع آب قابل‌دسترس جهت کشاورزی و کاهش نزولات جوی، حفظ رطوبت خاک در اراضی تحت کشت استان خوزستان در فصل کشت تابستانه محصولات از اهمیت برخوردار است. شرایط آب‌وهوایی منطقه موجب گردیده که خاک این مناطق از لحاظ ماده آلی و نیتروژن ضعیف باشد و این درحالی است که نیتروژن یک نیاز ضروری برای رشدنمو گیاهان دانه‌ای محسوب می‌شود. (Marraccini et al, 2012) حفظ کاه و کلش در تناوب غلات-لگوم در شرایط آب‌وهوایی مدیترانه‌ای را باعث بالارفتن کارایی مصرف آب و جذب بیشتر

برداشت و خرد کردن کاه و کلش با خرمکوب، بقایا با مقادیر تعیین شده توسط شخم و دیسک به خاک برگردانده شد. جهت انجام آزمون خاک قبل از عملیات تهیه زمین، یک نمونه مرکب از مزرعه تهیه و برای انجام تجزیه فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه خاکشناسی منتقل شد.

بودند از مقادیر مختلف بقایای کاه و کلش گندم در پنج سطح (صفر، ۱۷۵۰، ۳۵۰۰، ۵۲۵۰ و ۷۰۰۰ کیلوگرم در هکتار) به عنوان کرت اصلی و کود نیتروژن از منبع اوره در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) که به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. کشت سال قبل گندم بود که پس از

جدول ۱- نتایج حاصل از آزمون خاک مزرعه آزمایشی

Table 1. The result of the test of experiment soil field

ذرات خاک (درصد)	عنصر غذایی	مواد آلی	اسیدیته	هدایت الکتریکی	عمق خاک (سانتی متر)
soil tissue	Nutrient element	OM	pH	(ds.m ⁻¹)	soil depth (cm)
رس clay سیلت silt شن sand	N(%) P(ppm) K(ppm)			EC	
15	0.077 9.5 210	0.81	7.9	2.68	0-30

آن مربوط به تیمار بدون کود نیتروژن بود. اثر متقابل بقایا و کود بر تعداد غلاف در بوته معنی دار شد (جدول ۲) و بیشترین آن مربوط به ۵۲۵۰ و ۳۵۰۰ کیلوگرم کاه و کلش گندم در هکتار توأم با ۲۵۰ کیلوگرم نیتروژن مصرفی و کمترین آن مربوط به تیمار بدون کاربرد بقایا و بدون کود نیتروژن بود (شکل ۱).

حفظ کلش غلات در کشت محصولات تابستانه باعث حفظ ذخیره آب خاک، افزایش رطوبت خاک و کارایی مصرف نیتروژن می شود که سبب افزایش دوام و طول مدت گلدهی و گرده افشانی، افزایش فتوسنتز و تجمع ماده خشک بیشتر در بوته و افزایش کارایی انتقال کربوهیدرات ها از قسمت های رویشی (ساقه و برگ ها) به سمت گل ها و غلاف ها می شود که تعداد غلاف در بوته افزایش می یابد. همچنین بهبود وضعیت تغذیه ای در اثر افزودن کود نیتروژن، رشد و توسعه سایه انداز گیاهی سریع تر شروع می شود و پوشش گیاهی سریع تر سطح خاک را می پوشاند که باعث کاهش ازدست رفتن آب از سطح خاک می گردد. (Eman Azadi et al, (2013) در بررسی سطوح مختلف کود نیتروژن (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) در ارقام ماش بیشترین عملکرد دانه، طول غلاف، تعداد غلاف در بوته و تعداد شاخه جانبی گل دهنده را از بالاترین سطح کاربرد نیتروژن (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) به دست آوردند. (Asaduzzaman et al, (2008) افزایش تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف را منجر به افزایش عملکرد دانه ماش گزارش کردند. (Kashfi et al, (2011) افزودن ۲۵ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن آغازگر در نخود زراعی را موجب افزایش تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، شاخص برداشت و عملکرد دانه عنوان کردند.

قبل از اقدام به کاشت مقادیر مورد نظر کلش گندم و کود نیتروژن در مقادیر تعیین شده به زمین اضافه شد. کود نیتروژن در دو نوبت به صورت نصف قبل از کاشت و نصف دیگر قبل از گلدهی اعمال گردید. کود سوپرفسفات تریپل به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به طور مساوی به همه کرت ها داده شد. عملیات کاشت به صورت دستی در عمق چهار سانتی متری با تراکم ۲۵ بوته در متر مربع روی ردیف های چهارمتری با فاصله ۳۰ سانتی متر و شش ردیف کاشت در تیرماه انجام شد. اندازه هر کرت فرعی ۱۲ متر مربع بود. پس از تعیین میزان رطوبت خاک در هر هفته، آبیاری به صورت نشتی و با سیفون انجام شد. برای اندازه گیری صفات مورد نظر از هر کرت با رعایت اثر حاشیه تعداد ۱۰ بوته به طور تصادفی انتخاب و برداشت شد و صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، طول غلاف، تعداد شاخه در بوته، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت اندازه گیری شد. برای انجام تجزیه واریانس از نرم افزار MSTAT-C استفاده شد و مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح پنج درصد انجام پذیرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از Excel 2010 انجام گرفت.

نتایج و بحث

تعداد غلاف در بوته: نتایج نشان داد که اثرات مقادیر کاه و کلش گندم و سطوح کود نیتروژن بر تعداد غلاف در بوته معنی دار شد (جدول ۲). بیشترین تعداد غلاف در بوته در تیمار ۳۵۰۰ کیلوگرم کاه و کلش گندم در هکتار حاصل شد که با تیمار ۵۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کاه و کلش تفاوت معنی داری نداشت و کمترین تعداد غلاف در بوته در تیمار بدون کاربرد بقایا به دست آمد. همچنین بیشترین تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمار ۲۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن در هکتار و کمترین

جدول ۲ - تجزیه واریانس اثر مقادیر متفاوت کاه و کلس گندم و سطوح کود نیتروژن بر عملکرد ماش
Table 2- Analysis of variance the effect of wheat straw and N fertilizer levels on mungbean yield and component yield

میانگین مربعات (MS)									
وزن خشک علف	شاخص برداشت	تعداد شاخه جانبی	ارتفاع بوته	عملکرد بیولوژیک	عملکرد دانه	وزن هزار دانه	تعداد دانه	تعداد غلاف در بوته	درجه آزادی
Dry matter weed	Harvest index	number branch	Height plant	Biological yield	Seed yield	grain weight 1000	seed pod ⁻¹	pod plant ⁻¹	df
454.11	4.73	0.026	5.04	152415.09	12310.76	1.36	0.66	29.06	2
78.20 ^{ns}	34.24 [*]	0.39 ^{ns}	94.45 ^{**}	313011.26 ^{**}	566891.52 ^{**}	0.44 ^{ns}	9.86 ^{**}	224.50 ^{**}	4
119.48	6.67	0.215	11.23	275808.17	48092.26	2.68	0.62	11.23	8
35.60 ^{ns}	46.67 [*]	1.28 ^{**}	666.27 ^{**}	44918279.62 ^{**}	5265479.36 ^{**}	50.46 [*]	64.90 ^{**}	855.20 ^{**}	2
14.09 ^{ns}	54.58 ^{ns}	0.033 ^{ns}	9.28 ^{ns}	597899.96 ^{**}	99164.77 [*]	0.42 ^{ns}	2.83 [*]	66.70 ^{**}	8
103.08	10.09	0.22	10.27	271265.8	43410.96	2.18	0.98	19.20	20
22.36	9.41	10.54	5.34	7.71	8.96	2.30	11.67	9.80	-
									cv

و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد ns اختلاف غیر معنی دار

*, ** significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

.ns: non- significant

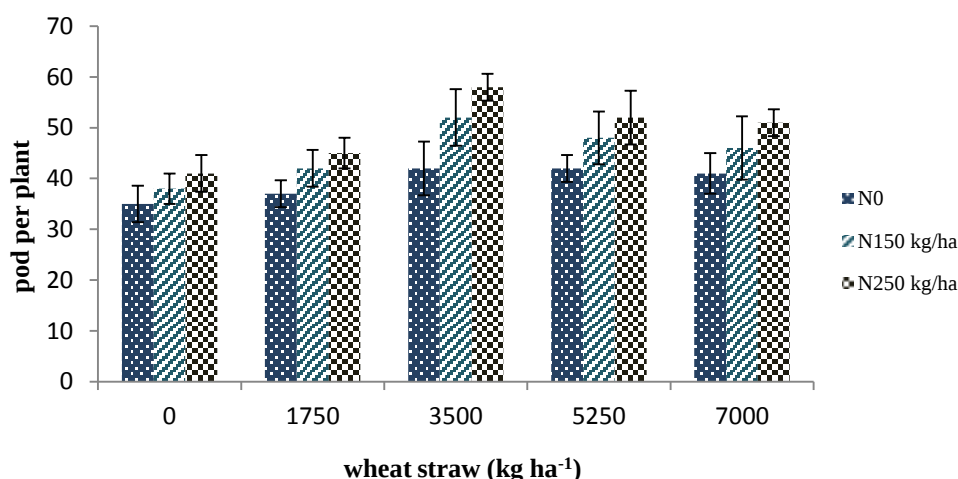
جدول ۳- مقایسات میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت اثر بقایای کاه و کلش گندم و کود نیتروژن در ماش

Table 3. Effect of wheat straw and Nitrogen fertilizer levels on evaluated traits in mungbean

مقادیر کاه و کلش گندم Wheat straw levels (kg.ha ⁻¹)	شاخص برداشت Harvest index	وزن هزار دانه 1000grain weight (g)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد شاخه جانبی Number branches	وزن خشک علف‌های هرز weed dry matter (g.m ⁻²)
7000	32.74 b	64.10 a	57.27 b	3.57 a	40.47 a
5250	36.81 ab	64.28 a	60.99 ab	3.60 a	45.08 a
3500	37.29 a	64.31 a	65.08 a	3.65 a	46.22 a
1750	32.33 b	63.90 a	59.09 b	3.50 a	47.52 a
0	33.06 b	63.81 a	57.22 b	3.11 b	47.68 a
nitrogen fertilizer rate (kg/ha)					
0	32.57 b	61.96 b	53.38 c	3.14 b	43.70 a
150	33.72 b	65.12 a	59.66 b	3.61 a	45.79 a
250	36.20 a	65.15 a	66.70 a	3.66 a	46.70 a

اعداد دارای حروف مشترک در یک ستون در سطح احتمال پنج درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means followed by the same columns are not significantly different at p = 0.05 levels



شکل ۱- اثر متقابل مقادیر کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر تعداد غلاف در بوته

Fig. 1. Interaction effect of wheat residue levels and nitrogen fertilizer on pod per plant

همچنین اثر متقابل سطوح کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار شد (جدول ۲) و افزایش مصرف کود نیتروژن از صفر تا ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار در تیمار کاربرد ۷۰۰۰ کیلوگرم در هکتار کاه و کلش گندم موجب افزایش بیشتری در تعداد دانه در غلاف نسبت به تیمار بدون کاربرد بقایا گردید (شکل ۲).

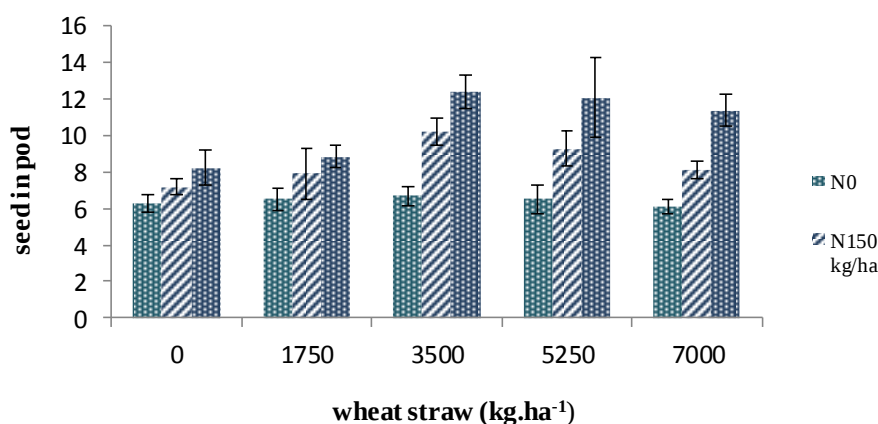
کاهش تعداد دانه در غلاف در اثر کمبود نیتروژن به دلیل کمبود کاهش مواد پرورده کربنی است. حبوبات از ظرفیت بالایی برای تولید گل و میوه و بذر برخوردار هستند، اما فقط

تعداد دانه در غلاف: نتایج نشان داد که تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر بقایای گندم قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (جدول ۲) و بالاترین تعداد دانه در غلاف مربوط به تیمار ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار کاه و کلش بود که با تیمار ۵۲۵۰ کیلوگرم در هکتار اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین آن‌ها مربوط به تیمار بدون بقایا بود (جدول ۳).

اثر نیتروژن بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار شد (جدول ۲) و بیشترین آن از تیمار ۲۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کمترین آن از تیمار بدون کود نیتروژن به دست آمد.

از طرفی با گذشت زمان این احتیاجات بیشتر شده و انتقال مواد فتوسنتزی از بخش‌های رویشی به بخش‌های زایشی تداوم می‌یابد. وقوع این پدیده سبب پیری بافت‌های رویشی و کاهش دوره پُرشدن دانه‌ها و متعاقب آن کاهش عملکرد دانه خواهد شد (Parsa & Bagheri, 2008).

بخش کوچکی از این گل‌های تولیدشده به دانه تبدیل می‌شوند. یکی از دلایل اصلی عملکرد کم حبوبات، کمبود مخزن است که عمدتاً به ریزش گل و میوه‌ها مربوط می‌شود. محتمل‌ترین دلیل که به این پدیده نسبت داده می‌شود، این است که گیاه قادر به تأمین نیاز کربن و نیتروژن گل و میوه‌های تولیدشده نیست و



شکل ۲- اثر متقابل مقادیر متفاوت کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر تعداد دانه در غلاف

Fig. 2. Interaction effect of wheat residue levels and nitrogen fertilizer on seed per pod

نیتروژن در این دوره بر دوام شاخص سطح برگ، میزان کلروفیل و بهبود تولید کربوهیدرات‌ها و انتقال آن‌ها به غلاف‌ها و دانه‌های در حال رشد اثر می‌گذارد که باعث افزایش تعداد دانه در غلاف می‌شود.

وزن هزار دانه: اثر کود نیتروژن بر وزن هزاردانه معنی‌دار شد و بقایای گیاهی و اثر متقابل کاربرد آن‌ها بر وزن هزاردانه معنی‌دار نشد (جدول ۲). از آن جایی‌که در ماش دانه‌ای سایر اجزای عملکرد مانند تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف در مقایسه با اندازه دانه زودتر شکل می‌گیرد، بدیهی است که سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی را در جهت رشدونمو خود مصرف می‌کنند. از این رو اندازه دانه و در نتیجه وزن هزاردانه کمتر تغییر می‌کند. همان‌طور که در این آزمایش مشخص گردید، وزن هزاردانه نسبت به تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف، کمتر تحت اثر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت.

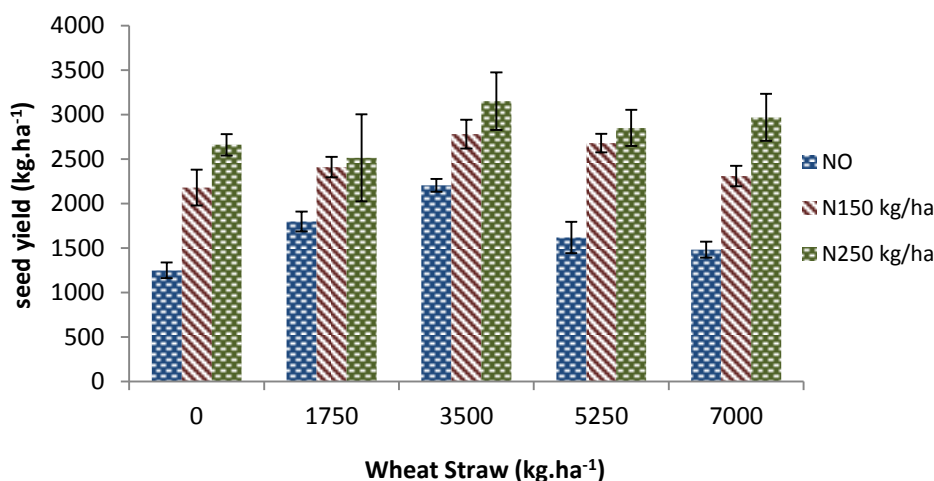
در مطالعه‌ای توسط Mohammadzadeh *et al*, (2008) مشخص گردید در شرایط تنش خشکی و هنگامی که کود نیتروژن به میزان معمول به کار می‌رود، وزن دانه نسبت به حالتی که نیتروژن به میزان کافی و زیاد به کار برده می‌شود، کاهش می‌یابد.

عملکرد دانه: براساس نتایج حاصل از اثر اصلی مقادیر مختلف کاه و کلش گندم و کود نیتروژن بر عملکرد دانه در

وجود بقایای گیاهی با اثر بر روی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و افزایش قابلیت نفوذپذیری آب، کارایی بالاتر استفاده از عناصر غذایی به وسیله افزایش قابلیت دسترسی آن‌ها برای ریشه همراه با افزودن کودهای نیتروژن‌دار، باعث افزایش دوام سطح سبز گیاه و دوام بیشتر فتوسنتز و تولید مواد فتوسنتزی و همچنین انتقال آن‌ها جهت پُرشدن دانه‌ها شده و ایجاد دانه‌های سالم و کامل را باعث می‌گردد و از این طریق سبب بهبود وزن و تعداد دانه در غلاف می‌شوند. Srisaard *et al*, (2007) حفظ بقایای آفتابگردان، ذرت و سویا را منجر به تولید طبق‌های بیشتر و بزرگ‌تر و افزایش تعداد دانه در طبق در آفتابگردان دانستند که منجر به افزایش عملکرد دانه شد و دلیل آن را کنترل بیشتر علف‌های هرز و وزن ساقه بیشتر در آفتابگردان دانستند که منجر به افزایش انتقال مواد از قسمت های رویشی به دانه‌ها می‌شود. Achakzai *et al*, (2010) در مطالعه ای روی ماش و Ebadi *et al*, (2006) در تحقیقی روی سویا، افزایش عملکرد دانه ناشی از افزایش مصرف کود نیتروژن را به واسطه افزایش تعداد دانه در غلاف گزارش کردند. در توضیح باید گفت که پس از شکل‌گیری غلاف‌ها مرحله افزایش طول غلاف‌ها آغاز می‌شود و غلاف‌ها در این مرحله هتروتروف هستند یعنی برای رشد به مواد فتوسنتزی نیاز دارند در این دوره حداکثر طول غلاف حاصل می‌شود و تعداد دانه تا حدود زیادی تعیین می‌شود. بنابراین غنی‌بودن خاک از

بیشترین عملکرد دانه ماش از تیمار ۳۵۰۰ کیلوگرم کاه و کلش گندم در هکتار توأم با ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن از تیمار بدون بقایا و بدون کود نیتروژن به دست آمد (شکل ۳).

سطح یک درصد معنی دار شد و اثر متقابل کاربرد آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد دانه ماش معنی دار شد (جدول ۲).



شکل ۳- اثر متقابل بقایای گندم و نیتروژن بر عملکرد دانه ماش

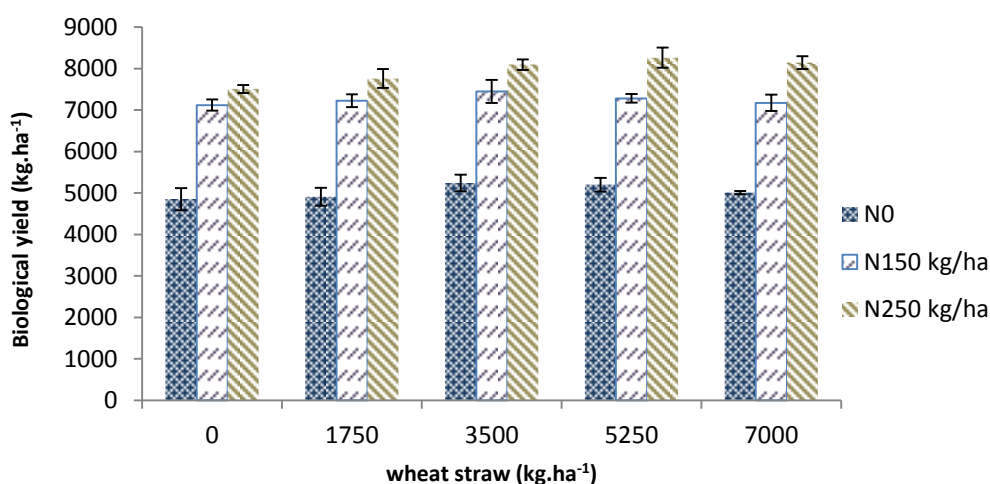
Fig. 3. Interaction effect of wheat residue levels and nitrogen fertilizer on seed yield

از کاشت ماش را باعث افزایش عملکرد دانه از ۲۲۸ کیلوگرم در هکتار به ۳۳۲ کیلوگرم در هکتار، کاهش بیوماس علف‌های هرز، افزایش رطوبت خاک و افزایش کارایی مصرف آب گزارش کردند. Futi et al, (2010) با بررسی سطوح مختلف فسفات آمونیوم (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) استفاده از سطوح بالاتر کودی را نسبت به شاهد باعث افزایش راندمان فتوسنتزی، افزایش سرعت تنفس و هدایت روزنه‌ای در مراحل مختلف نموی سویا (رویشی، گلدهی، پُرشدن دانه) دانستند و همبستگی سرعت فتوسنتز و میزان کلروفیل با عملکرد دانه سویا در مرحله گلدهی و پُرشدن دانه معنی دار بود و در مرحله رویشی اثری بر عملکرد دانه نداشت. Salah Uddin et al, (2009) با بررسی اثر کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر ژنوتیپ‌های مختلف ماش پس از کاشت گندم افزایش معنی دار شاخص سطح برگ، تعداد شاخه فرعی و افزایش وزن خشک ساقه و عملکرد دانه را در اثر افزودن کودهای نیتروژن دار و فسفره گزارش کردند. Mrabet et al, و Tsuji et al, (2006) (2011) عنوان داشتند بقایای گیاهی با فراهم آوردن شرایط فیزیکی و شیمیایی بهتر در خاک نسبت به آیش، جذب عناصر غذایی توسط گیاه را بیشتر کرده و سبب افزایش میزان فتوسنتز شده و از این طریق موجب افزایش عملکرد گیاه می گردند.

مطالعات نشان داده‌اند که برگرداندن کلش غلات قبل از کاشت بقولات موجب می‌شود که بقایای کربن دار، نیتروژن قابل دسترس را محبوس کرده و لگوم‌ها را به تثبیت بیشتر نیتروژن و گره‌زایی بیشتر وادار کنند که این خود باعث دسترسی بیشتر ماش به عناصر غذایی مورد نیاز شده که روی عملکرد دانه اثر مثبتی دارد (Shen et al, 2010). Mohammad et al, (2011) و Bunnaa et al, (2011) در مطالعات خود بیان داشتند که حفظ کاه و کلش غلات و سامانه‌های خاک‌ورزی حفاظتی مقدار نیترات خاک را کاهش می‌دهند که ممکن است بر تثبیت زیستی نیتروژن اثر گذاشته و گره‌بندی و تثبیت زیستی نیتروژن در بقولات را در خاک‌های با غلظت کم نیترات افزایش دهد. بنابراین بقایای گیاهی و کود نیتروژن از طریق افزایش اجزای عملکرد ماش (تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه) باعث افزایش عملکرد دانه می‌شوند. Mohammad et al, (2010) اثر بقایای گیاهی را بر عملکرد دانه و عملکرد کاه در ماش دانه‌ای را مثبت ارزیابی کرده و عنوان نمودند که حفظ بقایای گیاهی در خاک سبب بالا رفتن کارایی مصرف آب، افزایش تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و افزایش محتوی و کارایی جذب نیتروژن در ماش می‌شود که در مجموع اجزای عملکرد و عملکرد ماش را بهبود می‌دهد. Bunna et al, (2011) افزودن کاه و کلش برنج به خاک قبل

کمترین عملکرد بیولوژیک مربوط به تیمار بدون بقایا و بدون کود آورده بود (شکل ۴).

عملکرد بیولوژیک: اثر کود نیتروژن و بقایای گیاهی و اثر متقابل آن‌ها بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین عملکرد بیولوژیک از کاربرد ۵۲۵۰ کیلوگرم کاه و کلش گندم توأم با ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد و



شکل ۴- اثر متقابل بقایای گندم و کود نیتروژن بر عملکرد بیولوژیک
Fig. 4. Interaction effect of wheat residue levels and nitrogen fertilizer on biological yield

از جمله Momsefia *et al*, (2014) در سویا و Bunna *et al*, (2011) در ماش دانه‌ای و Srisaard, (2007) در آفتابگردان افزایش ارتفاع بوته در اثر کاربرد بقایای گیاهی را گزارش کردند. همچنین به‌نظر می‌رسد که افزایش ارتفاع ساقه ماش با افزایش مصرف نیتروژن از طریق افزایش طول میان‌گره و افزایش تولید مواد فتوسنتزی صورت می‌گیرد.

تعداد شاخه فرعی: اثر کود نیتروژن بر تعداد شاخه فرعی در بوته معنی‌دار شد، ولی اثر بقایای گیاهی و اثر متقابل نیتروژن و بقایا معنی‌دار نشد (جدول ۲). بیشترین تعداد شاخه گل‌دهنده از تیمار کودی ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن از تیمار بدون کود نیتروژن و حذف کامل بقایا به‌دست آمد (جدول ۳). نتایج این تحقیق با نتایج آزمایشات Azadi *et al*, (2013) و Mohammad *et al*, (2010) مطابقت داشت. افزایش فعالیت ریزوبیوم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در اثر افزایش کربن خاک منجر به افزایش رشد ونمو گیاه و افزایش تعداد شاخه‌های گل‌دهنده و در نهایت عملکرد ماش می‌شود. Futi *et al*, (2010) در سویا و Khashfi *et al*, (2011) در نخود افزایش شاخه‌های فرعی گل‌دهنده را در اثر افزودن کود نیتروژن گزارش کردند.

با افزودن بقایای گیاهی به‌علت بهبود شرایط فیزیکوشیمیایی و زیستی خاک عملکرد افزایش می‌یابد (Marraccini *et al*, 2012). Asaduzzaman *et al*, (2008) افزایش وزن خشک ساقه، برگ، اندام‌های زایشی و وزن خشک کل بوته (عملکرد بیولوژیک) را در اثر افزودن نیتروژن گزارش کردند و عنوان داشتند که استفاده از کودهای نیتروژن‌دار می‌تواند اثرات منفی تنش خشکی را تخفیف دهد.

ارتفاع بوته: اثر بقایا و کود نیتروژن بر ارتفاع بوته معنی‌دار شد (جدول ۲). کمترین ارتفاع بوته از تیمار بدون کاه و کلش حاصل شد و بین سایر مقادیر بقایا تفاوت معنی‌داری از لحاظ ارتفاع بوته وجود نداشت. همچنین بیشترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار کودی ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن مربوط به بدون کود (شاهد) بود (جدول ۳). اثر متقابل بقایا و کود بر ارتفاع بوته ماش معنی‌دار نشد (جدول ۲)، ولی نتایج نشان داد چنانچه افزودن بقایا (کلش گندم) متناسب با افزایش نیتروژن نباشد، به‌علت کندی رشد اولیه ارتفاع بوته کاهش می‌یابد. در تحقیقی Shen *et al*, (2001) با بررسی مقادیر مختلف کاه گندم، افزایش ارتفاع بوته ماش و وزن خشک ساقه را در اثر افزایش کاه و کلش گندم گزارش کردند. سایر محققان

کردند بقایای گیاهان زراعی سرکوب بهتر علف‌های هرز یک‌ساله دانه ریز نسبت به علف‌های هرز چندساله را به‌دنبال دارد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل از این پژوهش، ماش به کاربرد بقایای گیاهی و کود نیتروژن واکنش مثبت نشان داد. بیشترین عملکرد دانه و اجزای عملکرد ماش از تیمار ۳۵۰ کیلوگرم کاه و کلش گندم در هکتار حاصل شد. با استفاده از بقایای گیاهی در شرایط کشت تابستانه در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌توان تبخیر و تعرق را به‌وسیله افزایش انعکاس نور، کاهش دما و افزایش آب خاک در ناحیه اطراف ریشه کاهش داد و با افزایش کارایی مصرف آب، عملکرد بیولوژیک و دانه از طریق افزایش اجزای عملکرد مثل تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته و در واحد سطح و وزن هزاردانه و افزایش تعداد شاخه گل‌دهنده افزایش می‌یابد. همچنین بقایای کربن‌دار کلش گندم منجر به افزایش تثبیت نیتروژن و گره‌زایی بهتر ریشه‌ها شده که جذب عناصر غذایی افزایش می‌یابد. همچنین افزایش مصرف کود نیتروژن باعث افزایش عملکرد بیولوژیک و دانه و اجزای عملکرد ماش شد و شاخص برداشت نیز افزایش یافت. بقایای گیاهی و کود نیتروژن اثر معنی‌داری بر وزن خشک علف‌های هرز نداشتند، زیرا علف‌های هرز بیشتر از نوع دائمی و چندساله بودند.

شاخص برداشت: براساس نتایج حاصل، اثر کود نیتروژن و سطوح کاه و کلش گندم بر شاخص برداشت معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین شاخص برداشت ماش از تیمار ۲۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و ۳۵۰ کیلوگرم کاه و کلش در هکتار به‌دست آمد (جدول ۳). نسبت ماده خشک دانه به کل ماده خشک گیاهی در ارتباط بسیار نزدیکی با تعداد و فعالیت مقصدهای زایشی قرار دارد و از آنجاکه این مقصدهای زایشی در ارتباط مستقیم با آهنگ رشد گیاه هستند، بنابراین در نتیجه کمبود عناصر پرمصرف، آهنگ رشد گیاه با تأثیر بر مقاصد زایشی باعث کاهش نسبت ماده خشک دانه به کل ماده خشک گیاهی می‌شود.

وزن خشک کل علف‌های هرز: بر اساس نتایج حاصل، تأثیر بقایای گیاهی و کود نیتروژن و اثر متقابل کاربرد بر وزن خشک علف‌های هرز مزرعه ماش معنی‌دار نشد (جدول ۲). از آن‌جا که علف‌های هرز مزرعه ماش از نوع چندساله شامل اویارسلام، مرغ و سوروف بودند و از طریق ریزوم و ساقه رونده تکثیر می‌شوند، تیمارهای به‌کاررفته تأثیری بر رشد و وزن خشک آن‌ها در مرحله برداشت ماش نداشتند.

(Bilalis et al, 2003) در تحقیقی گزارش کردند که مقادیر مختلف کاه و کلش گندم در زراعت باقلا بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز دائمی چندساله اثر کمتری نسبت به علف‌های هرز یکساله داشت. (Mayer et al, 1994) بیان

منابع

1. Achakzai, A.K., and Habibullah, K. 2012. Effect of nitrogen fertilizer on the yield and yield attributes of mungbean (*Vigna radiata*) grown in Quetta. Pakistan Journal Botany 44(3): 981-987.
2. Ashraf, M., Mueen-ud-Din, M., and Warraich, N.H. 2003. Production efficiency of mungbean (*Vigna radiata* L.) as affected by seed inoculation and NPK application. International Journal Agriculture Biology 5(2): 179-180.
3. Ali, S., Hasan, A., Ijaz, S.S., and Ansar, M. 2013. Mungbean (*Vigna radiata*) yield and di-nitrogen fixation under minimum tillage at semiarid pothwar, Pakistan. The Journal of Animal & Plant Sciences 23(1): 198-200.
4. Azadi, E., Rafiee, M., and Nasrollahi, H. 2013. The effect of different nitrogen levels on seed yield and morphological characteristic of mungbean in the climate condition of Khorramabad. Annals of Biological Research 4(2): 51-55.
5. Asaduzzaman, M., Karim, F., Ullah, J., and Hasanuzzaman, M. 2008. Response of mungbean (*Vigna radiata*) to nitrogen and irrigation management. American-Eurasian Journal of Scientific Research 3(1): 40-43.
6. Aulakh, M.S., Manchanda, J.S., Garg, A.K., Kumar, S., Dercon, G., and Nguyen, M. 2012. Crop production and nutrient use efficiency of conservation agriculture for soybean-wheat rotation in the Indo-Gangetic Plains of Northwestern India. Soil & Tillage Research 120: 50-60.
7. Bakht, J., Shafi, M., Jan, M.T., and Shah, Z. 2009. Influence of crop residue management, cropping system and N fertilizer on soil N and C dynamics and sustainable wheat (*Triticum aestivum* L.) production. Soil and Tillage Research 104: 233-240.
8. Behera, U.K., Sharma, A.R., and Pandey, H.N. 2007. Sustaining productivity of wheat-soybean cropping system through integrated nutrient management practices on the Vertisols of central India. Plant and Soil 297: 185-199.

9. Bilalis, D., Efthimiadis, P., and Sidiras, N. 2003. Effect of different levels of wheat straw soil surface coverage on weed flora in vicia faba crops. *Journal Agronomy Crop Science* 189: 233-241.
10. Blanco-Canqui, H., and Lal, R. 2009. Crop residue removal impacts on soil productivity and environmental quality. *Crit. Rev. Plant Science* 28: 139-163.
11. Bozorgi, H.R., Azarpour, E., and Moradi, M. 2011. The effects a bio, mineral nitrogen fertilization and foliar zinc spraying on yield and yield components of faba bean. *World Applied Science* 13(6): 1409-1414.
12. Bunnaa, S., Sinatha, P., Makaraa, O., Mitchellb, J., and Fukaib, S. 2011. Effects of straw mulch on mungbean yield in rice fields with strongly compacted soils. *Field Crops Research* 124: 295-301.
13. Buranova, J., Cerny, M., Kulhanek, F., Vasak, J., and Balik, M. 2015. Influence of mineral and organic fertilizers on yield and nitrogen efficiency of winter wheat. *International Journal of Plant Production* 9(2): 257-271.
14. Ebadi, A., Tobe, A., Karbala.ee Khiavi. H., and Khodadoost. Z. 2006. Effects of mineral nitrogen consumption on soybean yield and yield components in water deficit conditions. *Pajouhesh & Sazandegi* 71: 51-57. (In Persian with English Summary).
15. Fu-ti, X., Hui-jun, Z., Hai-ying, W., Xue, A., and Martin Steven, S. 2010. Effect of preplant fertilizer on agronomic and physiological traits of soybean cultivars from different breeding programs. *Agricultural Sciences in China* 9(11): 1602-1611.
16. Kashfi, S.M.H., Majnoun Hosseini, N., and Zeinali Khaneghah, H. 2011. Effect of plant density and starter nitrogen fertilizer on yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. Kourosh) at Karaj conditions. *Iranian Journal of Pulses Research* 2: 11-20. (In Persian with English Summary).
17. Khalilzadeh, R., Tajbakhsh, M., and Jalilian, J. 2012. Growth characteristics of mung bean (*Vigna radiata* L.) affected by foliar application of urea and bio-organic fertilizers. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 637-642.
18. Majnon Hoseini, N. 2008. Grain Legume Production. *Jahad Daneshghahi. Pub. University of Tehran.* 283 page. (In persian).
19. Malik, M.A., Saleem, M.F., Ali, A., and Mehmood, L. 2003. Effect of nitrogen and phosphorous application on growth, yield and quality of mungbeanf (*Vigna radiata*). *Pakistan Journal Agricultural Science* 40(3): 133-136.
20. Marraccini, E., Debolini, M., Di Bene, C., and Bonari, E. 2012. Factors affecting soil organic matter conservation in Mediterranean hillside winter cereals-legumes cropping systems. *Italian Journal of Agronomy* 7: 283-292.
21. Monsefia, A., Sharmab, A.R., Rang Zanc, N., Beherad, U.K., and Dasd, T.K. 2014. Effect of tillage and residue management on productivity of soybean and physico-chemical properties of soil in soybean-wheat cropping system. *International Journal of Plant Production* 8(3): 429-439.
22. Mohammadzadeh , A., Majnoon hosseini, N., Moghadam, H., and Akbari, M. 2008. Influence of water stress and nitrogen levels on seed yield and yield components in two red kidney bean genotypes. *Iranian Journal of Field Crop Science* 1: 29-38. (In Persian with English Summary).
23. Mohammad, W., Samreen, S., Shah, Z., and Shah, S.M. 2010. Effect tillage and crop residues management on mungbean (*Vigna radiate*) crop yield, nitrogen fixation and water use efficiency in rainfed areas. *Pakistan Journal Botany* 42(3): 1781-1789.
24. Mohammad, W., Shah, S.A., Shehzadi, S., and Haroon, S. 2014. Effect of conservation agriculture practices on oat Fodder yield, water use efficiency, and microbial biomass C and N in rainfed dry area of north- west Pakistan. *Journal Agriculture Science Technology* 16: 1033-1042.
25. Mrabet, R. 2011. Effects of residue management and cropping systems on wheat yield stability in a semiarid mediterranean clay soil. *American Journal of Plant Sciences* 2: 202-216.
26. Pandiaraj, S. Selvaraj, N., and Ramu, N. 2015. Effects of crop residue management and nitrogen fertilizer on soil nitrogen and carbon content and productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.) in two cropping systems. *Journal Agriculture Science Technology* 17: 249-260.
27. Ramakrishna, A., Tam, H.M., Wani, S.P., and Long, T.D. 2006. Effect of mulch on soil temperature, moisture, weed infestation and yield of groundnut in northern Vietnam. *Field Crop Research* 95: 115-125.
28. Salah Uddin, Md., Ruhul Amin, A., Jafar Ullah, M., and Asaduzzman, M. 2009. Interaction effect of variety and different fertilizers on the growth and yield of summer mungbean. *American-Eurasian Journal Agronomy* 2(3): 180-184.
29. Shen, Q.R., Shen, Z.G., and Wang, J.L. 2001. Effects of pig manure and wheat straw on growth of mung bean seedlings grown in aluminium toxicity soil. *Bioresource Technology* 76: 235-240.

30. Srisaard, K. 2007. Effect of crop residues of sunflower (*Heliaanthus annuus*), maize (*Zea mays*), and soybean (*Glycine max*) on growth and seed yields of sunflower. Pakistan Journal of Biological Sciences 10(8): 1282-1287.
31. Tsuji, H., Yamamoto, H., Matsuo, K., and Usuki, K. 2006. The effect of long-term conservation tillage, crop residues and P fertilizer on soil conditions and responses of summer and winter crops on an Andosol in Japan. Soil and Tillage Research 89: 167-176.
32. Verma, N.K., and Pandey, B.K. 2013. Effect of varying rice residue management practices on growth and yield of wheat and soil organic carbon in rice-wheat sequence. Global Journal of Science Frontier Research Agriculture and Veterinary Sciences 13(3): 32-38.
33. Zang, H., Yang, X., Feng, X., Qian, X., Hu, Y., Ren, C., and Zeng, Z. 2015. Rhizodeposition of nitrogen and carbon by mungbean (*Vigna radiata* L.) and its contribution to intercropped oats (*Avena nuda* L.). Field Crop Research 95: 105-118.

The effect of wheat residue management and nitrogen levels on yield and yield component of mungbean (*Vigna radiate*)

Khamady^{1*}, F., Mesgarbashi², M., Hassibi², P., Farzaneh³, M. & Enayatzamir⁴, N.

1. PhD Student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Chamran University of Ahvaz
2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Chamran University of Ahvaz
3. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Chamran University of Ahvaz
4. Assistant Professor, Department of Soil Science, Shahid Chamran University of Ahvaz

Received: 5 October 2015

Accepted: 13 April 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.48149

Introduction

Crop residues are those parts of the plants that left in the field after the harvestable parts of crops (grain, tubers, roots, etc.) are removed. The recycling of crop residues has the advantage of converting the surplus farm waste into useful products for meeting nutrient requirements of crops. It also maintains the soil physical and chemical condition and improves the overall ecological balance of the crop production system. Research has shown that the return of crop residues on fragile soils improved the tilt and fertility of soil, enhance crop productivity, reduce the wind and water erosion and prevent nutrients losses by run off and leaching. Despite these advantages, farmers in Iran prefer to remove crop residues out of field to feed livestock or use them as fuel or as building construction materials and burning. Nitrogen is one of the basic compounds in plant nutrition and its deficit directly one of important growth limiting factors in plants because the need of plants to this element is much more than the other one. The aim of the present study was to evaluate the wheat residue management and nitrogen fertilizer levels to improve mungbean growth and productivity under Ahwaz conditions.

Materials & Methods

The experiment was conducted at Agriculture Faculty Farm, of Chamran University during summer of 2014. The soil texture of the experimental site is clay loam with pH of 7.9 and EC of 2.8 ds.m⁻¹. The experiment was conducted in randomized complete block design using split plot arrangement with three replications. Five crop residues (0, 1750, 3500, 5250 and 7000 kg.ha⁻¹) were assigned to the main plots. While three levels of nitrogen (0, 150, 250 kg.ha⁻¹) were applied to the sub plots. The experimental unit area was 10.5 m² (4.2 × 2.5 m). At harvest, random samples of ten plants for each experimental unit were taken and plant height number of branches, pod per plant, seed per pod, 1000 grain weight, were recorded. Whole plot was harvested for determination of seed, straw and biological yield and harvest index. All collected data were subjected to analysis of variance procedure using the MCTATC statistical software and means were separated using Duncan method at 5% level of significance.

Results & Discussion

The results of experiment revealed that crop residue management and interaction wheat residue and nitrogen levels had a significant effect on number of pod plant⁻¹, number of seed pod⁻¹ traits. Wheat residue incorporation enhanced those traits in comparison with control (No crop residue incorporation) in this respect application of 3500 kg/ha straw (50% wheat residue) produced 50.77 pod per plant and 9.75 seed per

*Corresponding Author: stu.agri@chmail.ir, Mobile: 09168985677

pod respectively. It is plausible that wheat residue gave the highest number of branches, consequently increased the number of plant. Application of N fertilizer significantly enhanced all yield component in this study compared with control. The highest values of number of pod per plant, number of seed per pod and 1000 kernel weight, plant height traits were obtained when N application was used at the rate of 250 kg ha⁻¹. There was no significant difference between the mean values obtained from applying 150 or 250 kg ha⁻¹ for number branch/plant and 1000 seed weight. The results are in agreement with that obtained by Achakzai *et al.*, (2010) and Azadi *et al.*, (2013). Data revealed that wheat straw rates, N fertilizer levels and their interaction had significant effect on seed yield and biological yield and harvest index. Application of wheat straw enhanced this trait in comparison with control (no crop residue) and the superiority in this respect to (3500 and 5250 kg.ha⁻¹ wheat straw) which gave the highest values of 2611 and 6983 for seed yield and biological yield respectively. The highest values of seed yield and biological yield were obtained when N fertilizer application was used at the rate of 250 kg.ha⁻¹, furthermore, the interaction between crop residue and N fertilizer rates had significant effect on seed yield and biological yield. The highest seed yield and biological yield were obtained from combination treatment with 50% wheat straw incorporation and 250 kg/ha with no significant differences between this interaction and obtained seed yield and biological yield from 75% wheat straw and 250 kg N.ha⁻¹. This is to be logic since the same interaction gained the highest values of yield components and consequently seed yield. It might be due to the addition of crop residue and additional fertilization which might have improved the soil health and consequently higher uptake of available nutrients from the soil and increased the yield components, morphological and physiological characteristics which ultimately attributed to increase grain yield. Crop residue on decomposition released nutrients slowly throughout the growth period, which resulted in better plant growth and higher yields. Also biological nitrogen fixation by legumes increased by crop residue application on soil surface due to better activity of rhizobia created by relatively cooler and moist environment in the rhizosphere led to high crop growth, increased NPK uptake, and resulted into significant increase in mungbean yield.

Conclusion

The results of this experiment showed that application of 3500 kg wheat residue ha⁻¹ and 250 kg N.ha⁻¹ enhanced crop growth and produced the highest seed yield.

Key words: Biological nitrogen fixation, Crop system sustainable management, Weed

بررسی اثر تلقیح بذور نخود با ریزوبیوم، میکوریزای آرباسکولار و شبه میکوریزای داخلی بر عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.)

محمد جواد ارشدی^۱، مهدی پارسا^{۲*}، امیر لکزیان^۳ و محمد کافی^۲

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی و گروه پژوهشی بقولات پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۴- استاد گروه زراعت دانشکده کشاورزی و گروه پژوهشی بقولات پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۱۲

چکیده

به منظور بررسی تلقیح بذور ژنوتیپ‌های نخود با ریزوبیوم، میکوریزای آرباسکولار و شبه میکوریزای داخلی، آزمایشی به صورت اسپلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به اجرا درآمد. فاکتور اصلی شامل سه سطح میکوریزایی (*Glomus mosseae*، میکوریزای آرباسکولار، *Piriformospora indica* و عدم مصرف قارچ) و فاکتور فرعی شامل ۹ ژنوتیپ نخود بود. نتایج نشان داد که میکوریزا به طور معنی داری باعث افزایش عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت و تعداد غلاف در بوته گردید. لکن اثر سطوح میکوریزا بر روی صفات تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه معنی دار نشد. در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق، بیشترین عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و تعداد غلاف در بوته به ژنوتیپ MCC537 اختصاص داشت و ژنوتیپ‌های MCC80، MCC537 و MCC392 مشترکاً به طور معنی داری بیشترین شاخص برداشت را از خود نشان دادند. بیشترین وزن هزار دانه نیز به ژنوتیپ MCC392 اختصاص داشت، اما از نظر تعداد دانه در غلاف اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. در بررسی اثرات متقابل میکوریزا و ژنوتیپ‌های نخود ملاحظه گردید که بیشترین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک به ترکیب میکوریزا همراه با ژنوتیپ MCC537 و بیشترین شاخص برداشت به ترکیب میکوریزا و ژنوتیپ MCC80 تعلق داشت.

واژه‌های کلیدی: شبه میکوریزای داخلی، میکوریزای آرباسکولار، نخود و همزیستی سه گانه

مقدمه

در بین حبوبات، نخود دومین محصول جهانی است که در ۴۸ کشور جهان با سطحی بیش از ۱۰/۷ میلیون هکتار و تولیدی بیش از هشت میلیون تن با درصد پروتئین بالا (۲۲-۲۴ درصد) کشت می‌شود (FAO, 2009). در ایران، نخود در بین حبوبات بیشترین سطح زیر کشت (۶۴۱۰۰۰ هکتار) را به خود اختصاص داده است. این در حالی است که میانگین عملکرد نخود آبی و دیم کشور به ترتیب در حدود ۱۰۰۰ و ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار بوده (Alimadadi et al., 2005) و از نظر عملکرد (۴۰۰ کیلوگرم در هکتار) در میان ۴۸ کشور تولیدکننده این محصول، به همراه کشور تانزانیا آخرین رتبه را دارا می‌باشد (Ganjeali et al., 2005). از طرف دیگر، وجود بیش از ۲۰ هزار

ژنوتیپ مختلف نخود در مراکز تحقیقاتی ایکاردا^۲ و ایکریست^۳ (Zare Mehrjerdi et al., 2005) لزوم طراحی برنامه گزینشی با کارایی مناسب جهت به گزینی برای شرایط محیطی مختلف را ضروری جلوه می‌دهد.

یکی از عواملی که احتمالاً بتواند در افزایش عملکرد گیاه نخود مؤثر باشد، همزیستی آن با قارچ میکوریزا است. قارچ‌های میکوریزا به واسطه تحریک توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه می‌توانند در افزایش جذب مواد غذایی آن مؤثر باشند. ضمن آن که قارچ‌های میکوریزا در تأمین زیستی فسفر برای گیاه نقش به سزایی دارند. از بین آن‌ها، میکوریزاهای داخلی (یا وزیکولار-آرباسکولارها) که به اختصار به VAMها^۴ شهرت یافته‌اند، در

^۲ Icarda

^۳ Icrisat

^۴ Vesicular Arbuscular Mycorrhiza

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۵۵۱۷۴۱۹۵، parsa@um.ac.ir

پلات (کرت‌های خُردشده) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به‌اجرا در آمد. فاکتور اصلی شامل سه سطح میکوریزایی (میکوریزای *AMF Glomus mosseae*، شبه‌میکوریزای داخلی *Piriformospora indica* و عدم مصرف قارچ) و فاکتور فرعی شامل ۹ ژنوتیپ نخود با پتانسیل عملکرد بالا بود. این ژنوتیپ‌ها طی مطالعات انجام‌شده بر روی ژرم‌پلاسما متعلق به بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، گزینش و معرفی شده‌اند (جدول ۱). قبل از انجام عملیات کاشت، از خاک مزرعه در عمق ۳۰ سانتی‌متری، نمونه‌برداری و مقادیر pH، درصد ماده آلی، EC، عناصر ماکرو (N، P و K) و عناصر میکرو (Cu، Zn، Fe و Mn) و همچنین نوع بافت خاک تعیین شدند (جدول ۲). بافت خاک محل آزمایش از نوع سیلت لومی بود. بر اساس توصیه کودی آزمایشگاه خاک مقدار عناصر فسفر و پتاسیم خاک در حد متعادل قرار داشت و نیازی به مصرف کودهای فسفره و پتاسه نبود. لکن، قبل از کاشت، ۴۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار به‌عنوان استارتر و ۲۰ تن در هکتار کود دامی جهت افزایش کربن آلی خاک استفاده شد. پس از انجام عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، دیسک، تسطیح و ایجاد جوی و پشته، کاشت در تاریخ ۲۰ اسفندماه سال ۱۳۹۲ در وسط پشته انجام گردید. فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر بود و در هر کرت پنج ردیف منظور شد که دو ردیف کناری به‌عنوان حاشیه بودند. طول کرت‌ها ۷/۵ متر بود و در هر ردیف ۷۵ عدد بذر به‌صورت دستی در عمق پنج سانتی‌متر کشت گردید. بذور ابتدا با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد، ضدعفونی و سپس با آب مقطر شسته شدند. جهت آلوده‌کردن بذور به باکتری ریزوبیوم همزیست نخود^۲، مایه تلقیح تجاری این باکتری از شرکت زیست‌فناوری مهر آسیای تهران تهیه شد و مطابق با روش توصیه‌شده توسط این شرکت، به‌صورت بذر مال، به‌طور یکسان برای کلیه تیمارها مورد استفاده قرار گرفت (Izadi darbandi & Akram, 2010). به‌منظور آلوده کردن خاک مزرعه به قارچ *mosseae Glomus* این قارچ از کلینیک گیاه‌پزشکی ارگانیک همدان تهیه و مطابق با روش توصیه‌شده توسط این شرکت، قبل از کاشت بذور، در تیمارهای مورد نظر ۳۰ گرم از خاک آلوده به میسلیوم قارچ مذکور (در هر گرم خاک ۱۲۰ عدد اسپور وجود داشت) در محل قرارگیری بذر بر روی پشته ریخته شد (Kamaei, 2014) و جهت تلقیح بذور نخود به قارچ *Piriformospora indica*، بذور جوانه‌زده

برقراری همزیستی با ریشه گیاهان زراعی از جمله لگوم‌ها موفق تر بوده‌اند، چراکه آن‌ها نیز با دریافت کربن تثبیت‌شده فتوسنتزی، عناصر غذایی را به فرم قابل جذب برای گیاه در می آورند (Koocheki et al., 2005; Shrimant Shridhar, 2005). همچنین قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم، قبل از این که هریک با گیاه میزبان، همزیستی ایجاد کنند، در محیط ریزوسفری گیاه میزبان مستقیماً بر روی هم تأثیر می‌گذارند (Ford Denison & Toby Kiers, 2011). ایجاد کلونی در ریشه‌ها توسط قارچ میکوریزا شرایط را برای گره‌زایی ریزوبیوم مساعد می‌کند. به عبارت دیگر میکوریزاها هم در ایجاد شرایط مساعد برای تولید گره‌های ریزوبیومی بر روی ریشه و هم در فراهمی بیشتر فسفر برای آنزیم نیتروژناز موجود در باکتری‌های ریزوبیوم نقش دارند. در مقابل، ریزوبیوم‌ها در جذب بهتر نیتروژن و به دنبال آن سنتز بیشتر اسیدهای آمینه و فراهمی اسیدهای آمینه مورد نیاز میکوریزاها نقش دارند. البته تمام اجزای این سیستم همزیستی سه‌گانه، بایستی در حد مطلوب خود عمل نمایند. چراکه مشارکت ریزوبیوم‌ها و قارچ‌های میکوریزا تقریباً همیشه وجود دارند، اما ممکن است الزاماً بهترین ترکیب اجزای همزیستی فراهم نباشد (Koocheki et al., 2005; Ford Denison & Toby Kiers, 2011; Diouf et al., 2003).

مطالعات نشان داده‌اند که VAM‌ها (که جدیداً به AMF‌ها^۱ نام‌گذاری شده‌اند) عموماً از گروه زیگوماست‌ها هستند (Asadi Rahmani et al., 2007; Sing et al., 2000). اما اخیراً یک گونه جدید از بازیدیوماست‌ها با نام *Piriformospora indica* شناسایی شده که همانند AMF‌ها عمل کرده و اندوفیت می‌باشد و برخلاف سایر همگروه‌های خود، به داخل ریشه گیاه میزبان نفوذ پیدا می‌کند (Verma et al., 1998). به همین دلیل اصطلاحاً به آن شبه‌میکوریزای داخلی نیز می‌گویند. مزیت اصلی سویه *P. indica* آن است که بر خلاف AMF‌ها، یک همزیست اختیاری بوده و به راحتی در محیط آزمایشگاه تکثیر می‌شود و قابلیت کشت در محیط‌های مصنوعی را دارد (Verma et al., 1998; Kari Dolatabadi & Mohammadi Goltapeh, 2010). لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر تلقیح بذور ژنوتیپ‌های مختلف نخود با قارچ‌های AMF و شبه‌میکوریزای داخلی و ارزیابی تأثیر آن بر روی عملکرد و اجزای عملکرد نخود انجام گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت اسپیلت

^۲ *Mesorhizobium ciceri*

^۱ Arbuscular Mycorrhizal Fungi

محیط کشت حاضر، ریخته و پتری‌دیش‌ها به مدت یک شبانه روز بدون حرکت کنار گذاشته شدند. پس از آماده شدن محیط کشت جامد، قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بر روی پلیت‌ها تلقیح و پتری‌ها جهت رشد و تکثیر قارچ به گرم‌خانه منتقل شدند (Kumar et al., 2011; Namvar, 2014).

در طول فصل رشد، سه مرتبه عملیات وجین در تاریخ‌های ۱۷ و ۲۳ اردیبهشت ماه و چهار خردادماه و ۲ مرتبه عملیات سم پاشی با سم دیازینون جهت مبارزه با کرم هلیوتیس با غلظت یک در هزار در تاریخ‌های ۲۴ و ۳۰ اردیبهشت‌ماه به‌طور یکسان برای کرت‌های آزمایشی صورت پذیرفت. برای کلیه تیمارها آبیاری در سه مرحله پس از کاشت، شروع گلدهی و غلاف‌دهی انجام گردید (هنگامی که سه بوته از سه ردیف میانی هر کرت به گل رفته بودند، شروع گلدهی و زمانی که سه بوته از سه ردیف میانی هر کرت دارای غلاف شده بودند، شروع غلاف‌دهی تلقی گردید (IBPGR, ICRISAT, & ICARDA., 1993).

دو روزه نخود در محیط مایه حاوی این قارچ، غوطه‌ور شده و سپس مورد کشت قرار گرفتند (Harrach, 2009).

محیط کشت قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا جهت تکثیر، شامل ۱۲/۵ میلی‌لیتر عناصر ماکرو (NaNO₃ 120 g/l; KCl 10.4 g/l; MgSO₄.7H₂O 10.4 g/l; KH₂PO₄ 30.4 g/l; ZnSO₄.7H₂O 22.0 g/l; H₃BO₃ 11.0 g/l; MnCl₂.4H₂O 5.0 g/l; FeSO₄.7H₂O 5.0 g/l)، پنج گرم گلوکز، ۰/۷۵ گرم پپتون، ۰/۲۵ گرم عصاره مخمر، ۰/۲۵ میلی‌لیتر CaCl₂ ۲ مولار و ۱/۷۵ گرم آگار بود که این مواد، با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانیده شدند. pH محیط کشت با استفاده از KOH به ۶/۵ رسید و سپس جهت استریل شدن به مدت یک ساعت اتوکلاو گردید. در ادامه، محیط کشت، درون حمام آب گرم قرار داده شد و پس از کم شدن دما، با استفاده از میکروفلتر، ۰/۲۵ میلی‌لیتر ویتامین (0.05g/l) بیوتین، 0.25g/l ریبوفلاوین و 0.01g/l پیروکسین) به آن اضافه گردید. در انتها داخل هر پتری‌دیش، ۲۰ میلی‌لیتر از

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های نخود مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Traits of chickpea genotypes used in experiment

منبع Reference	منشا و نام ژنوتیپ Origin and name of genotype	کد شناسه در بانک بذر پژوهشگاه گیاهی Identifying code in seed bank of plant Institute
Ganjeali et al., 2011(a)	ایران، ۵۳۱۱ - 5311 Iran	MCC ^۱ 80
Ganjeali & Bagheri, 2010	ایران، رقم کرج - Karaj cultivar Iran	MCC 358
Ganjeali & Bagheri, 2010	ایران، رقم جم - Jam cultivar Iran	MCC 361
Ganjeali et al., 2011(a)	ایران، توده بومی کرمانشاه - Iran, native lot of Kermanshah	MCC 392
Ganjeali et al., 2011(b)	ایران، توده بومی بجنورد - Iran, native lot of Bojnurd	MCC 427
Ganjeali et al., 2011(a)	ایران، توده بومی گناباد - Iran, native lot of Gonabad	MCC 537
مذاکرات شخصی (پرسا، ج. ۱۳۹۳؛ مسئول بانک بذر پژوهشگاه علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد)	ایران - Iran	MCC 693
Abrishamchi et al., 2012	ایران - Iran	MCC 696
Mansoorifar et al., 2012	ایران، رقم هاشم - Iran, Hashem cultivar	MCC 950

جدول ۲- مشخصات خاک محل آزمایش

Table 2. Traits of soil of experiment location

اهدایت	الکتریکی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	آهن	مس	روی	منگنز	ماده آلی	شن	سیلت	رس
اسیدیته	(دسی‌زیمنس -	(پی‌پی‌ام)	(پی‌پی‌ام)	(پی‌پی‌ام)	(پی‌پی‌ام)	(پی‌پی‌ام)	(پی‌پی‌ام)	(پی‌پی‌ام)	(%)	(%)	(%)	(%)
pH	برمتر) EC (dS m ⁻¹)	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)	Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	OC (%)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)
7.29	4.26	0.0861	38	413	7.620	1.516	1.410	17.152	0.87	29.13	65.34	5.53

^۱ Mashhad Chickpea Collection

به‌خود اختصاص داد و پس از آن ژنوتیپ MCC427 با ۲۰۹۴ کیلوگرم دانه در هکتار در رتبه بعدی قرار گرفت. از طرف دیگر، ژنوتیپ‌های MCC358، MCC361، MCC696 و MCC950 نسبت به سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق، به‌ترتیب با تولید ۱۰۴۵، ۱۰۵۲، ۱۱۳۵ و ۱۰۸۷ کیلوگرم دانه در هکتار پایین‌ترین عملکردها را از خود نشان دادند (شکل ۲). تفاوت‌های موجود بین عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق، به قابلیت‌های مختلف پتانسیل تولید این ژنوتیپ‌ها نسبت داده شد. (Nezami et al, 2012) نیز در مطالعات خود بر روی ارزیابی بخشی از مجموعه ژرم‌پلاسما نخود بانک بذر دانشگاه فردوسی مشهد، تفاوت‌های قابل‌ملاحظه‌ای را از نظر خصوصیات زراعی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی گزارش کردند؛ به‌طوری‌که در تحقیقات آن‌ها عملکرد دانه ۶۷ درصد ژنوتیپ‌ها (۴۹ ژنوتیپ) بیش از ۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار و در ژنوتیپ، بیش از ۴۰۰۰ کیلوگرم در هکتار بود. این محققان استفاده از منابع ژنتیکی خود در کارهای اصلاحی به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های برتر خود را توصیه نمودند.

اثر متقابل سطوح کود زیستی و ژنوتیپ‌های نخود بر عملکرد دانه در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین‌ترتیب که ترکیب ژنوتیپ MCC537-مصرف ریزوبیوم به‌همراه میکوریزا، با عملکرد دانه ۲۷۳۰ کیلوگرم در هکتار به‌طور معنی‌داری بیشترین عملکرد را از خود نشان داد (جدول ۴). به‌طور کلی تقریباً عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در تیمار مصرف تلفیقی ریزوبیوم و میکوریزا بیشتر از عملکردهای آن‌ها در تیمارهای مصرف ریزوبیوم (به‌تنهایی) و مصرف تلفیقی ریزوبیوم و شبه‌میکوریزای داخلی بود. این نتایج، بازگوکننده موفقیت همزیستی سه‌گانه گیاه نخود، ریزوبیوم و میکوریزا و نیز نقش بهتر میکوریزا در تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و توزیع مناسب‌تر آن‌ها بین اندام‌های فتوسنتزی و مخازن نخود در مقایسه با دو تیمار دیگر می‌باشند. در همین راستا، (Zaidi et al, 2003) گزارش نمودند که استفاده از ریزوبیوم به‌همراه میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات و قارچ میکوریزای آرباسکولار، باعث افزایش وزن خشک گره ریزوبیوم می‌شود که خود می‌تواند افزایش عملکرد دانه نخود را به‌همراه داشته باشد.

در انتهای دوره رشد، تعداد ۱۰ بوته از هر کرت برداشت شد و پس از انتقال آن‌ها به آزمایشگاه صفات تعداد شاخه در بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزاردانه اندازه‌گیری شدند (Ehyae, 2010). در نیمه پایینی هر کرت که به ارزیابی عملکرد اختصاص یافته بود، بوته‌ها پس از حذف حاشیه برداشت شده و پس از کوبیدن و جداسازی دانه‌ها، ماده خشک بوته و عملکرد دانه به تفکیک اندازه‌گیری شده و بدین‌ترتیب شاخص برداشت محاسبه گردید. شایان ذکر است که ژنوتیپ MCC80 در تاریخ ۳۱ خردادماه ۱۳۹۳، ژنوتیپ‌های MCC358، MCC392، MCC361، MCC693، MCC696 و MCC427 در تاریخ ششم تیرماه ۱۳۹۳ و ژنوتیپ MCC537 در تاریخ هشتم تیرماه ۱۳۹۳ آماده برداشت شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم گراف‌های مربوطه با استفاده از نرم‌افزارهای EXCEL و MSTAT-C صورت پذیرفت. مقایسات میانگین نیز با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

میکروارگانیسم تأثیر بسیار معنی‌داری ($p < 0.01$) بر روی عملکرد دانه نخود داشت (جدول ۳). بدین‌ترتیب که در ترکیب تیماری ریزوبیوم و میکوریزا عملکرد دانه به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر بود و این تیمار در مقایسه با دو تیمار ریزوبیوم (به‌تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی عملکرد دانه را به‌ترتیب به‌میزان ۱۷/۲۴ و ۱۲/۴۸ درصد افزایش داد. اما دو تیمار ریزوبیوم (به‌تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی، از این نظر در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۱). به‌نظر می‌رسد که تیمار ریزوبیوم و میکوریزا در مقایسه با دو تیمار دیگر در جذب آب و مواد غذایی برای گیاه نخود موفق‌تر عمل کرده است که این موضوع، خود افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه و تخصیص بهتر فراورده‌های فتوسنتزی به سمت دانه‌های نخود را به‌همراه دارد. (Solaiman et al, 2005) نیز در تحقیقاتشان نتیجه گرفتند که کاربرد ریزوبیوم همراه با میکوریزای آرباسکولار برای گیاه نخود، به‌واسطه افزایش وزن خشک گره در مقایسه با کاربرد تنهای ریزوبیوم می‌تواند منجر به افزایش عملکرد گردد.

اثر ژنوتیپ‌های نخود بر عملکرد دانه در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳)، به‌طوری‌که ژنوتیپ MCC537 با تولید ۲۳۴۰ کیلوگرم دانه در هکتار بیشترین عملکرد دانه را

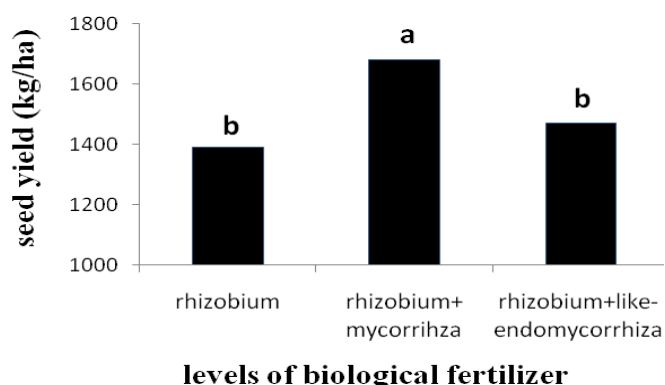
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه

Table 3. Analysis of variance for studied traits

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد دانه Seed yield	تعدادشاخه در بوته No. of branches per plant	تعدادگل در بوته No. of pods per plant	تعداددانه در غلاف No. of seeds per pod	وزن هزار دانه Weight of 1000 seed	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت Harvest index
تکرار Replication	2	9236.764	0.111	0.605	0.346	409.086	45182.248	0.052
کود زیستی Biological fertilizer (A)	2	602275.90 **	0.259 ns	28.012 **	0.160 ns	48.457 ns	2894592.7 **	17.582 **
خطای الف E (a)	4	11537.389	1.037	0.309	0.346	312.790	7677.342	0.818
ژنوتیپ Genotype (B)	8	2313273.1 **	33.694 **	86.725 **	0.160 ns	19363.03 **	5833002.9 **	326.88 **
ژنوتیپ*کودزیستی A * B	16	72262.674 **	0.245 ns	8.401 ns	0.063 ns	45.221 ns	322594.32 **	15.135 **
خطای ب E (b)	48	15762.227	1.201	7.727	0.290	382.264	23121.252	1.360
کل Total	80	-	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات CV (%)	-	8.29	11.08	11.04	39.66	8.38	3.21	3.68

** : معنی دار در سطح یک درصد؛ ns: غیرمعنی دار

** : significant in 1% level; ns: non-significant

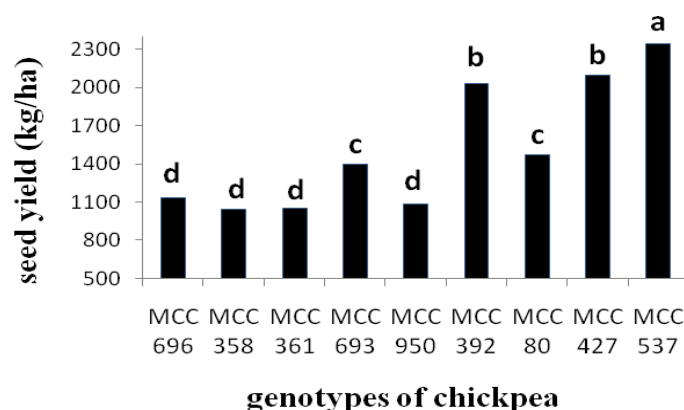


شکل ۱- اثر سطوح کود زیستی بر عملکرد دانه نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک‌درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 1. Effects of biological fertilizer on seed yield of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.



شکل ۲- اثر ژنوتیپ بر عملکرد دانه نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 2. Effects of genotype on seed yield of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

جدول ۴- اثرات متقابل کود زیستی و ژنوتیپ‌های نخود بر روی صفات مورد مطالعه

Table 4. Intractions of Biological fertilizer and chickpea genotypes on studied traits

کود زیستی Biological fertilizer	ژنوتیپ (MCC) Genotype	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Seed yield (Kg ha ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) Biological yield (Kg ha ⁻¹)	شاخص برداشت (درصد) HI (%)
ریزوبیوم Rhizobium	696	1134 ijk	4340 ijkl	26.15 hi
	358	925 kl	4026 klmn	23.00 jk
	361	876 kl	3979 lmno	22.01 k
	693	1370 ghij	4530 hij	30.23 f
	950	790 l	4329 ijkl	25.17 hij
	392	1907 de	5132 ef	37.14 cd
	80	1488 gh	3837 no	38.77 abc
	427	1957 cde	5330 de	36.70 cd
	537	2085 bcde	5486 cde	37.99 bcd
ریزوبیوم+ میکوریزا Rhizobium+ Mycorrhiza	696	1187 hijk	4455 ij	26.64 gh
	358	1285 hij	4429 ij	28.96 fg
	361	1185 hijk	4278 ijklm	27.71 fgh
	693	1431 ghi	4912 fg	29.10 fg
	950	1124 ijk	4366 ijk	25.67 hij
	392	2352 b	5823 c	40.39 ab
	80	1615 fg	3947 mno	40.92 a
	427	2226 bc	6596 b	33.74 e
	537	2730 a	7180 a	38.02 bcd
ریزوبیوم+ شبه میکوریزای داخلی Rhizobium+ Like - endo mycorrhiza	696	1085 jkl	4220 jklm	25.68 hij
	358	924 kl	3925 mno	23.62 ijk
	361	1094 jkl	3926 mno	27.87 fgh
	693	1375 ghij	4613 ghi	29.81 f
	950	1347 ghij	4550 hij	29.60 f
	392	1817 ef	4866 fgh	37.32 cd
	80	1302 hij	3650 o	35.66 de
	427	2099 bcde	5359 de	39.16 abc
	537	2203 bcd	5674 cd	38.82 abc

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

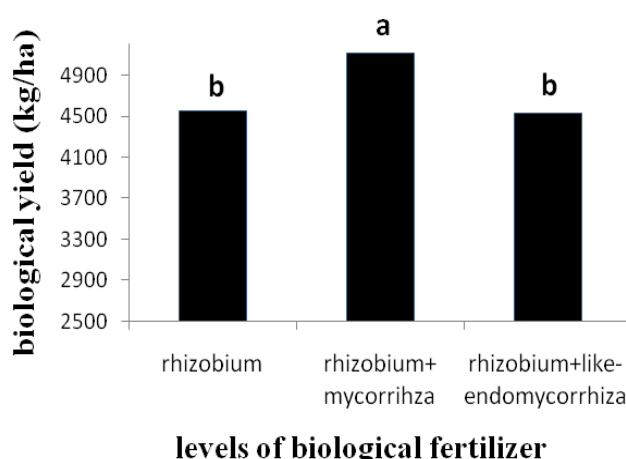
Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

عملکرد بیولوژیک

اثر سطوح کود زیستی بر عملکرد بیولوژیک نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین ترتیب که در ترکیب ریزوبیوم و میکوریزا عملکرد بیولوژیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر بود و این تیمار در مقایسه با دو تیمار مصرف ریزوبیوم (به‌تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی عملکرد بیولوژیک را به‌ترتیب به‌میزان ۱۱/۸۸ و ۱۱/۳۳ درصد افزایش داد. لکن، دو تیمار مصرف ریزوبیوم (به‌تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی، از این نظر در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۳). با توجه به نتایج به‌دست آمده از تأثیر مثبت چارچ میکوریزا بر روی افزایش وزن خشک اندام هوایی، تأثیر آن بر عملکرد بیولوژیک نخود منطقی به‌نظر می‌رسد. به‌عبارت بهتر، چنین استنباط می‌شود که همزیستی میکوریزایی تأثیر بهتری بر جذب آب و موادغذایی و نیز فتوسنتز گیاه نخود داشته و این موضوع موجب افزایش بیوماس بوته و در نهایت عملکرد بیولوژیک گیاه نخود گردیده است. این نتایج با یافته‌های (Darzi et al., 2009) و (Gupta et al., 2002) که به‌ترتیب اثر میکوریزا را بر روی عملکرد بیولوژیک گیاهان یونجه، رازیانه و نعنای بررسی کردند، هماهنگ است.

اثر ژنوتیپ‌های نخود بر عملکرد بیولوژیک آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). به‌طوری‌که ژنوتیپ MCC537 با تولید ۶۱۱۳ کیلوگرم ماده خشک در هکتار بیشترین عملکرد بیولوژیک را به‌خود اختصاص داد و پس از آن

ژنوتیپ MCC427 با ۵۷۶۲ کیلوگرم ماده خشک در هکتار در رتبه بعدی قرار گرفت. از طرف دیگر، ژنوتیپ MCC80 نسبت به سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق، با تولید ۳۸۱۱ کیلوگرم ماده خشک در هکتار پایین‌ترین عملکرد بیولوژیک را از خود نشان داد (شکل ۴). نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های مختلف نخود، تفاوت‌های قابل‌توجهی از نظر پتانسیل تولید ماده خشک و عملکرد بیولوژیک با یکدیگر دارند. علاوه‌براین، اثر متقابل سطوح کود زیستی و ژنوتیپ‌های نخود بر روی عملکرد بیولوژیک آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین ترتیب که عملکرد بیولوژیک در ترکیب ژنوتیپ MCC537 همراه با مصرف کود ریزوبیوم به‌همراه میکوریزا به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴). به‌طور کلی تقریباً عملکرد بیولوژیک کلیه ژنوتیپ‌ها در تیمار مصرف تلفیقی ریزوبیوم و میکوریزا بیشتر از عملکردهای بیولوژیک آن‌ها در تیمارهای مصرف ریزوبیوم (به تنهایی) و مصرف تلفیقی ریزوبیوم و شبه‌میکوریزای داخلی بود. به‌نظر می‌رسد که در سه رابطه همزیستی مورد بررسی در این تحقیق (نخود+ریزوبیوم، نخود+ریزوبیوم+میکوریزا و نخود+ریزوبیوم+شبه‌میکوریزای داخلی) رابطه همزیستی سه‌گانه گیاه نخود، ریزوبیوم و میکوریزا موفق‌تر عمل کرده و میکوریزا نقش بهتری در تأمین عناصر غذایی موردنیاز گیاه و توزیع مناسب‌تر آن‌ها بین اندام‌های فتوسنتزی نخود در مقایسه با دو تیمار دیگر داشته است.

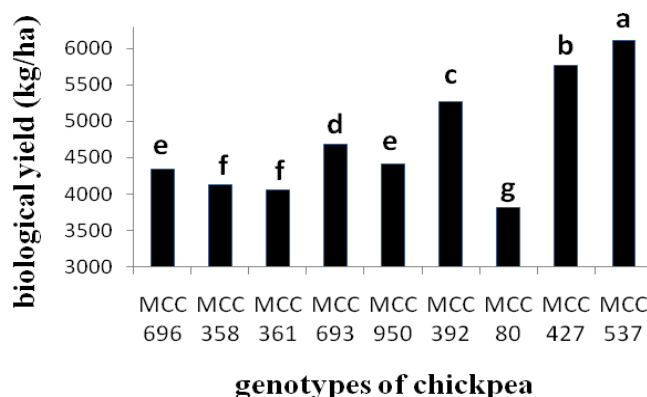


شکل ۳- اثر سطوح کود زیستی بر عملکرد بیولوژیک نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 3. Effects of biological fertilizer on biological yield of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.



شکل ۴- اثر سطوح ژنوتیپ بر عملکرد بیولوژیک نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 4. Effects of genotype on biological yield of chickpea

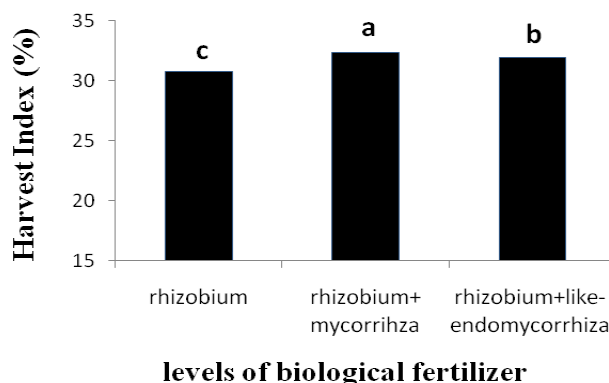
Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

شاخص برداشت

اثر سطوح کود زیستی بر شاخص برداشت نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین ترتیب که در تیمار ریزوبیوم و میکوریزا شاخص برداشت به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر بود و این تیمار در مقایسه با دو تیمار ریزوبیوم (به تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی شاخص برداشت را به‌ترتیب به‌میزان ۴/۷۹ و ۱/۲۴ درصد افزایش داد. همچنین شاخص برداشت در تیمار ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی به‌طور معنی‌داری و به‌میزان ۳/۵۹ درصد بیشتر از تیمار ریزوبیوم (به‌تنهایی) بود (شکل ۵). با توجه به افزایش عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک در تیمار ریزوبیوم و میکوریزا، افزایش شاخص برداشت در این تیمار منطقی به‌نظر می‌رسد و از تفسیر نتایج این پژوهش، چنین استنباط می‌شود که همزیستی سه‌گانه نخود، ریزوبیوم و میکوریزا، یک رابطه مسالمت آمیز موفق بوده که می‌تواند در افزایش عملکرد و ارتقای سطح تولید نخود مؤثر باشد. توضیح دیگر این‌که در بررسی اثرات تیمارهای ریزوبیوم (به‌تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی بر روی عملکردهای دانه و بیولوژیک نخود، ملاحظه گردید که اختلاف معنی‌داری بین اثربخشی این تیمارها وجود ندارد و از این منظر، هر دو صفت، در یک کلاس آماری قرار می‌گیرند. لکن، نتایج مقایسات میانگین این صفات بر روی شاخص برداشت، نشان دهنده برتری تیمار ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی بر تیمار ریزوبیوم (به‌تنهایی) بود. این موضوع مبین آن است که همزیستی سه‌گانه نخود، ریزوبیوم و شبه‌میکوریزای داخلی، تأثیر بهتری در توزیع فراورده‌های فتوسنتزی به سمت غلاف‌ها و دانه‌های در حال شکل‌گیری نخود دارد؛ هرچند که میزان اثربخشی آن به اندازه تیمار ریزوبیوم و میکوریزا نمی‌باشد.

Jamshidi et al, (2011) نیز در مطالعات خود بر روی بررسی اثر قارچ *indica Piriformospora* بر خصوصیات رشدی رازیانه، افزایش معنی‌دار شاخص برداشت را در گیاهان تحت این تیمار گزارش کردند.

اثر ژنوتیپ‌های نخود بر شاخص برداشت آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). به‌طوری‌که ژنوتیپ MCC80 با مقدار ۳۸/۴۵ درصد، بیشترین شاخص برداشت را به‌خود اختصاص داد. البته این ژنوتیپ با ژنوتیپ‌های MCC537 و MCC392 در یک گروه آماری قرار گرفت و پس از آن‌ها ژنوتیپ MCC427 با شاخص برداشت ۳۶/۵۳ در رتبه بعدی قرار گرفت. از طرف دیگر، ژنوتیپ MCC358 در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق، با مقدار ۲۵/۱۹ درصد پایین‌ترین شاخص برداشت را از خود نشان داد. هرچند که این ژنوتیپ با ژنوتیپ‌های MCC392 و MCC537 اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۶). همچنین اثر متقابل سطوح کود زیستی و ژنوتیپ‌های نخود بر روی شاخص برداشت آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین‌صورت که ترکیب ژنوتیپ MCC80-ریزوبیوم به‌همراه میکوریزا بیشترین شاخص برداشت را نشان داد. هرچند که این تیمار با تیمارهای ژنوتیپ MCC392-ریزوبیوم به‌همراه میکوریزا، ژنوتیپ MCC80-ریزوبیوم (به‌تنهایی)، ژنوتیپ MCC427-مصرف ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی و ژنوتیپ MCC537-ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد که تولید ماده خشک کمتر و در عین حال کاهش ناچیز عملکرد دانه در ترکیب ژنوتیپ MCC80-ریزوبیوم به‌همراه میکوریزا سبب افزایش نسبت عملکرد اقتصادی به عملکرد بیولوژیک و به‌دنبال آن افزایش شاخص برداشت این تیمار شده است.

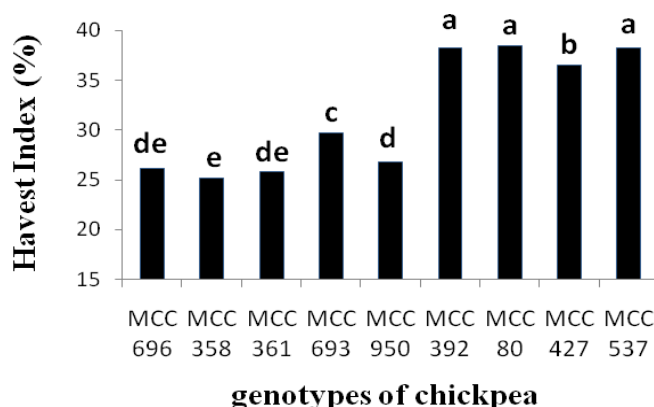


شکل ۵- اثر سطوح کود زیستی بر شاخص برداشت نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 5. Effects of biological fertilizer on harvest index of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.



شکل ۶- اثر سطوح ژنوتیپ بر شاخص برداشت نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 6. Effects of genotype on harvest index of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

اجزای عملکرد

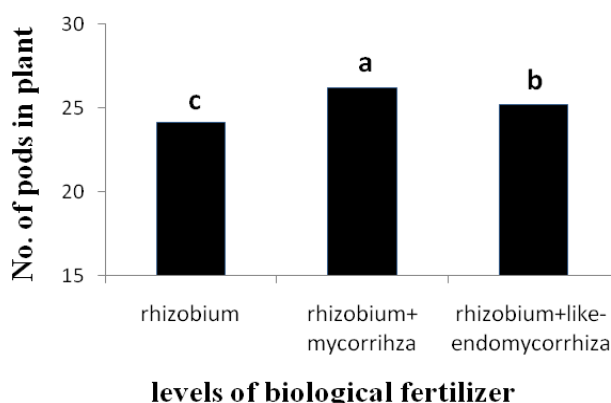
تعداد غلاف در بوته

اثر سطوح کود زیستی بر تعداد غلاف در بوته نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین ترتیب که در تیمار ریزوبیوم و میکوریزا تعداد غلاف در بوته به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر بود و این تیمار در مقایسه با دو تیمار ریزوبیوم (به‌تنهایی) و ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی تعداد غلاف در بوته را به‌ترتیب به‌میزان ۷/۷۸ و ۳/۸۱ درصد افزایش داد. همچنین تعداد غلاف در بوته در تیمار ریزوبیوم به‌همراه شبه‌میکوریزای داخلی به‌طور معنی‌داری و به‌میزان ۴/۱۲ درصد بیشتر از تیمار ریزوبیوم (به‌تنهایی) بود (شکل ۷).

در بین اجزای عملکرد نخود، صفت تعداد غلاف در بوته تنها جزئی بود که تحت تأثیر سطوح کود زیستی قرار گرفت و به‌نظر می‌رسد که این جزء در مقایسه با اجزای دیگر از انعطاف‌پذیری بالاتری در برابر نوسانات شرایط محیطی برخوردار باشد. گزارش‌های علمی حاکی از آن است که تأمین رطوبت و عناصر غذایی و عدم وجود پاتوژن‌ها مهم‌ترین عوامل در فراوانی تعداد غلاف‌ها و باروری دانه‌ها در نخود هستند (Ghalavand *et al.*, 2012). لذا چنین تفسیر می‌گردد که مصرف تلفیقی ریزوبیوم به‌همراه میکوریزا می‌تواند به‌واسطه تأمین مواد غذایی لازم برای واحدهای زایشی در شکل‌گیری تعداد بیشتر غلاف در بوته مؤثر باشد.

اجزای عملکرد نخود، صفات تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در بوته متغیرترین اجزای عملکرد هستند و شرایط محیطی و ژنوتیپ تأثیر معنی‌داری بر روی آن‌ها دارند (Tadayyon & Ghorbaninejad, 2012). در این پژوهش، ژنوتیپ MCC537 و پس از آن ژنوتیپ MCC427 در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها تعداد غلاف در بوته بیشتری را از خود نشان دادند و چنین برمی‌آید که این ژنوتیپ‌ها از پتانسیل بالاتری برای تولید تعداد غلاف در بوته برخوردار باشند.

اثر ژنوتیپ‌های نخود بر تعداد غلاف در بوته آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳)، به‌طوری که در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ MCC537 بیشترین و ژنوتیپ MCC358 کمترین تعداد غلاف در بوته را به‌خود اختصاص دادند. البته بین ژنوتیپ MCC537 با MCC427 و نیز بین ژنوتیپ MCC358 با ژنوتیپ‌های MCC696، MCC693، MCC361 و MCC392 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۸). تحقیقات نشان داده‌اند که در بین

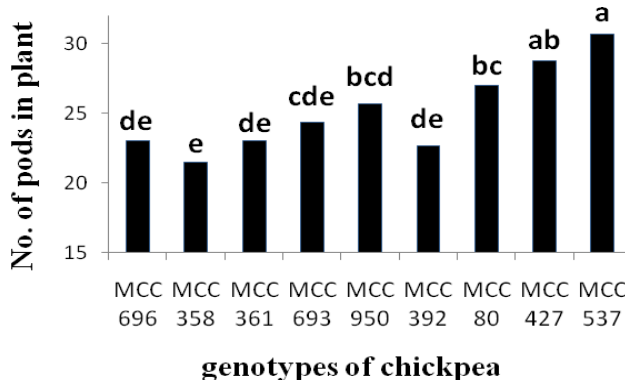


شکل ۷- اثر سطوح کود زیستی بر تعداد غلاف در بوته نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 7. Effects of biological fertilizer on No. of pods in plant of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.



شکل ۸- اثر ژنوتیپ بر تعداد غلاف در بوته نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 8. Effects of genotype on No. of pods in plant of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

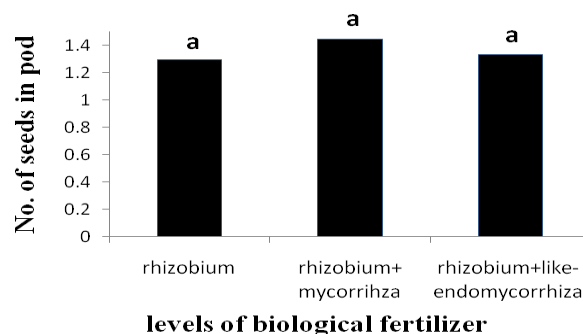
شکل ۱۰). علاوه‌بر این، اثر متقابل سطوح کود زیستی و ژنوتیپ‌های نخود نیز بر صفت تعداد دانه در غلاف معنی‌دار نشد (جدول ۳ و ۴). به‌نظر می‌رسد که خصوصیت تعداد دانه در غلاف، کمتر تحت تأثیر شرایط محیطی (مانند اثرات

تعداد دانه در غلاف

اثر سطوح کود زیستی بر تعداد دانه در غلاف نخود معنی‌دار نشد (جدول ۳ و شکل ۹). همچنین اثر ژنوتیپ‌های نخود بر روی تعداد دانه در غلاف معنی‌دار نگردید (جدول ۳ و

Niya (2012) در مطالعات خود ۱۹ ژنوتیپ نخود را از نظر تحمل به خشکی بررسی کردند. آن‌ها نیز گزارش کردند که اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر روی تعداد دانه در غلاف نخود معنی‌دار نشد و اختلاف بین ژنوتیپ‌ها نیز علی‌رغم معنی‌دار شدن، به گونه‌ای بود که ۱۸ ژنوتیپ آن در یک کلاس آماری قرار گرفتند.

همزیستی) قرار می‌گیرد یا لااقل این‌که ژنوتیپ‌های مورد بررسی، از نظر صفت تعداد دانه در غلاف دارای تنوع ژنتیکی ظریفی هستند که تجزیه واریانس موفق به کشف آن نشده است. در مجموع، چنین استنباط می‌شود که ژنوتیپ‌های نخود مورد بررسی در این تحقیق از نظر تولید تعداد دانه در غلاف، پتانسیل‌های مشابهی با یکدیگر دارند. Farshadfar & Javadi



شکل ۹- اثر سطوح کود زیستی بر تعداد دانه در غلاف نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 9. Effects of biological fertilizer on No. of seeds in pod of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 5%.



شکل ۱۰- اثر ژنوتیپ بر تعداد دانه در غلاف نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد با یکدیگر ندارند.

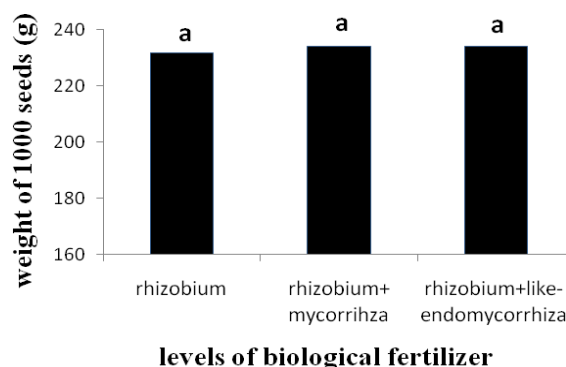
Fig. 10. Effects of genotype on No. of seeds in pod of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 5%.

بیشترین وزن هزاردانه را به خود اختصاص داده است و این پدیده سبب شده است تا این ژنوتیپ از نظر عملکرد در رتبه دوم قرار بگیرد. این موضوع بازگوکننده جبران‌پذیر بودن اجزای عملکرد نخود بوده و مبین آن است که برای اصلاح ژنوتیپ‌های نخود و ارتقای عملکرد آن‌ها می‌توان از چنین خصوصیتی کمک گرفت. در تحقیقات Farshadfar & Javadi Niya (2012) نیز ۱۹ ژنوتیپ نخود مورد ارزیابی قرار گرفت که در این بین، ژنوتیپ Flip-99-26C با ۳۹/۳ گرم به‌طور معنی‌داری بیشترین وزن صد دانه را تولید کرد.

وزن هزاردانه

اثر سطوح کود زیستی بر وزن هزار دانه نخود معنی‌دار نشد (جدول ۳ و شکل ۱۱)، اما اثر ژنوتیپ‌های نخود بر وزن هزاردانه آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بیشترین وزن هزاردانه مربوط به ژنوتیپ MCC392 بود و کمترین وزن هزاردانه را نیز ژنوتیپ‌های MCC80 و MCC361 از خود نشان دادند (شکل ۱۲). با توجه به شکل ۸ ملاحظه می‌شود که ژنوتیپ MCC392 از نظر تعداد غلاف در بوته از ژنوتیپ‌هایی است که کمترین تعداد غلاف را تولید کرده است؛ اما همین ژنوتیپ

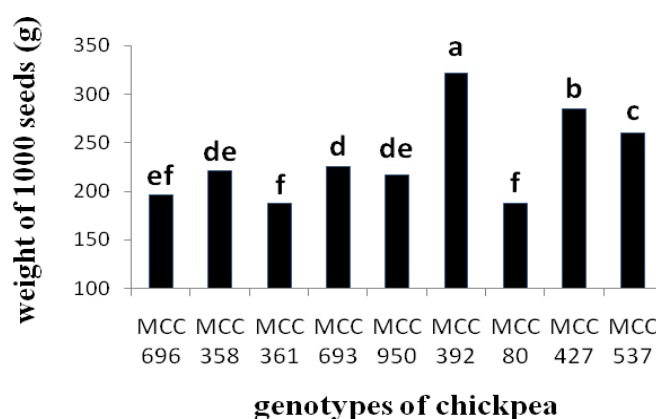


شکل ۱۱- اثر سطوح کود زیستی بر وزن هزاردانه نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 11. Effects of biological fertilizer on weight of 1000 seeds of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 5%.



شکل ۱۲- اثر ژنوتیپ بر وزن هزاردانه نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

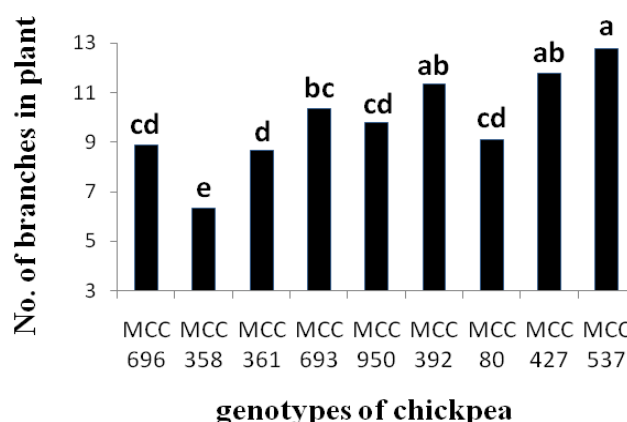
Fig. 12. 1000 seeds weight of chickpea genotypes

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

تعداد شاخه در بوته

اثر سطوح کود زیستی بر تعداد شاخه نخود معنی‌دار نشد (جدول ۳)، اما اثر ژنوتیپ‌های نخود بر تعداد شاخه آن در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بدین‌صورت که بیشترین تعداد شاخه مربوط به ژنوتیپ MCC537 بود و کمترین تعداد شاخه را ژنوتیپ MCC358 از خود نشان داد. البته ژنوتیپ MCC537 با ژنوتیپ‌های MCC427 و MCC392 از این منظر در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۱۳). از آنجایی که نخود دارای تیپ رشدی نامحدود می‌باشد، لذا به‌نظر می‌رسد که وجود تعداد شاخه بیشتر در بوته که در زمان رشد زایشی نیز به رشد خود ادامه می‌دهند،

می‌تواند منجر به شکل‌گیری تعداد غلاف بیشتر در بوته گردد. Sedaghat Khahi *et al*, (2012) نیز در مطالعات خود بر روی ژنوتیپ‌های مختلف نخود گزارش کردند ۱۸ درصد ژنوتیپ‌ها کمتر از پنج شاخه و ۱۵ درصد ژنوتیپ‌ها بیش از ۹ شاخه در بوته داشتند. آن‌ها بیان نمودند ژنوتیپ‌هایی که از تعداد شاخه بیشتری برخوردار بودند، طول فصل رشد بیشتری هم داشتند و به‌همین جهت، برتری این ژنوتیپ‌ها را در تعداد شاخه بیشتر به داشتن طول دوره رشد بیشتر و استفاده بهتر از شرایط محیطی نسبت دادند.



شکل ۱۳- اثر ژنوتیپ بر تعداد شاخه در بوته نخود

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر ندارند.

Fig. 13. Effects of genotype on No. of beranches in plant of chickpea

Means that have a least common letter, have not significantly different together based on Multiple Range Test at 1%.

منابع

1. Abrishamchi, P., Ganjeali, A., and Sakeni, H. 2012. Evaluation of morphological triats, proline content and antioxidant enzymes activity in chickpea genotype (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Iranian Journal of Pulses Research 3(2): 17-30. (In Persian with English Summary).
2. Alimadadi, A., Jansuz, M.R., Besharati, H., and Tavakol Afshari, R. 2010. Evaluate the effect of phosphate-solubilizing microorganisms, mycorrhiza and seed priming on nodulation in chickpea. Journal of Soil Research 24(1): 43-51. (In Persian with English Summary).
3. Asadi Rahmani, H., Asgharzadeh, A., khavazi, K., Rejali, F., and Savaghebi, G.R. 2007. Siol Biological Fertility. Publication of Jahad Daneshgahi. 311 pp. (In Persian).
4. Darzi, M.T., Ghalavand, A., and Rejali, F. 2009. Effect of mycorrhiza, vermicompost and phosphate biofertilizer application on flowering, biological yield and root colonization in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Crop Sciences 10(1): 88-109. (In Persian with English Summary).
5. Diouf, D., Diop, T.A., and Ndoeye, I. 2003. Actinorhizal, mycorrhizal and rhizobial symbioses: how much do we know? African Journal of Biotechnology 2(1): 1-7.
6. Ehyae, H.R. 2010. Foliar application of methanol and irrigation of regims on two chickpea genotypes morphological characters in field and green house. MSc. Thesis of Faculty of Agriculture. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Summary).
7. FAO. 2004. Agricultural Production Year Book. Rome. Italy.
8. Farshadfar, A., and Javadi Niya, J. 2011. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for drought tolerance. Breeding Seed and Plant Journal 1-27(4): 517-537. (In Persian with English Summary).
9. Ford Denison, R., and Toby Kiers, E. 2011. Life histories of symbiotic rhizobia and mycorrhizal fungi, a review. Current Biology 21(18): 775-785.
10. Ghalavand, A., Mohammadi, Kh., Aghaalikhani, M., Sohrabi, Y., and Heydari, Gh. 2012. Effects of different organic and biological fertilizers on yield and yield components of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 94: 41-49. (In Persian with English Summary).
11. Ganjeali, A., and Bagheri, A.R. 2010. Evaluation of root morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in response to drought stress. Iranian Journal of Pulses Research 1(2): 101-110. (In Persian with English Summary).
12. Ganjeali, A., Joveynipour, S., Porsa, H., and Bagheri, A.R. 2011b. Sellection for drought tolerance in Kabuli chickpea genotype (*Cicer arietinum* L.) in Neyshabour region. Iranian Journal of Pulses Research 2(1): 27-38. (In Persian with English Summary).

13. Ganjeali, A., Kafi, M., Bagheri, A.R., and Sharyari, F. 2005. Selection for drought tolerance in chickpea genotype (*Cicer arietinum* L.). Iranian Journal of Pulses Research 3(1): 103-122. (In Persian with English Summary).
14. Ganjeali, A., Porsa, H., and Bagheri, A.R. 2011a. Response of yield and morphophysiological characteristics of earliness chickpea genotype (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Iranian Journal of Pulses Research 2(1): 65-80. (In Persian with English Summary).
15. Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M., and kumar, S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81: 77-79.
16. Harrach, B.D. 2009. Abiotic and biotic stress effects on barley and tobacco plants. Plant Protection Institute of the Hungarian Academy of Sciences in Budapest.
17. IBPGR. ICRISAT and ICARDA. 1993. Description for Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Printed by ICRISAT.
18. Izadi Darbandi, A., and Akram, L. 2012. Investigate the effect of Pyridate, bentazon and Imazethapyr herbicide on growth, nodulation and biological nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Iranian Journal of Pulses Research 3(1): 94-105. (In Persian with English Summary).
19. Jamshidi, E., Ghalavand, A., Sephidkon, F., and Mohamadi Galtapeh, E. 2011. Effects of different nutrition systems (organic, chemical, biological and integrated) and fungi *Piriformospora indica* on yield and concentration of elements in shoot and grain of fennel (*Foeniculum valgare mill*). Environmental Sciences 8(40): 50-72. (In Persian with English Summary).
20. Kamaei, R. 2014. Effects of plant species and biological, chemical fertilizers and manure on mycorrhiza infectivness under greenhouse conditions. MSc. Thesis of Faculty of Agriculture. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Summary).
21. Kari Dolatabadi, H., and Mohamadi Galtapeh, E. 2010. In vivo biological activity of *Piriformospora indica*, *Sebacina vermifera* and *Trichoderma* spp. against *Fusarium* wilt of lentil. Plant Protection Journal 2(2): 127-143. (In Persian with English Summary).
22. Koocheki, A., Zand, A., Banayan, M., Rezvani Moghadam, P., Mahdavi Damghani, A., Jami Alahmadi, M., and Vesal, S. 2005. Plant Eco-Physiology. Vol. 2. Publications of Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).
23. Kumar, V., Sahai, V., and Bisaria, V.S. 2011. High-density spore production of *Piriformospora indica*, a plant growth-promoting endophyte, by optimization of nutritional and cultural parameters. Bioresource Technology 102: 3169-3175.
24. Mansoorifar, S., Shaban, M., Ghobadi, M., and Sabaghpoor, S.H. 2012. Physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress and nitrogen fertilizer as starter. Iranian Journal of Pulses Research 3(1): 101-110. (In Persian with English Summary).
25. Namvar, P. 2014. Evaluation of effects of *Piriformospora indica* on nitrogen and phosphorus uptake in corn. MSc. Thesis of Faculty of Agriculture. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Summary).
26. Nazami, A., Pouramir, F., Momeni, S., Porsa, H., Ganjeali, A., and Bagheri, A. 2012. Evaluation of a subset of chickpea germplasm collection of the Ferdowsi University of Mashhad Seed Bank, Kabuli type chickpea. Iranian Journal of Pulses Research 3(1): 17-30. (In Persian with English Summary).
27. Rezvami, M., Ardakani, M.R., Rejali, F., Noor Mohamadi, Gh., Zafariyan, F., and Teymuri, S. 2009. The effect of different strains of mycorrhizal fungi on root characteristics and concentrations of phosphorus, potassium, iron, zinc on Alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Modern Knowledge of Agriculture 5(15): 55-67. (In Persian with English Summary).
28. Sedaghat Khahi, H., Parsa, M., Nezami, A., Bagheri, A., and Porsa, H. 2012. Evaluation of the morphological and phenological characteristics of cold tolerance chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotype at Entezary sowing in Mashhad condition. Iranian Journal of Pulses Research 3(1): 41-52. (In Persian with English Summary).
29. Shrimant Shridhar, B. 2012. Review: nitrogen fixing microorganisms. International Journal of Microbiological Research 3(1): 46-52.
30. Singh. D.N., Massod Ali, R.I., and Basu, P.S. 2000. Genetic variation in dry matter partitioning in shoot and root influences of chickpea to drought. 3rd International Crop Science Congress 2000. Hamburg Germany.
31. Solaiman, A.R.M., Rabbani, M.G., and Moll, M.N. 2005. Effects of inoculation of Rhizobium and arbuscular mycorrhiza, poultry litter, nitrogen, and phosphorus on growth and yield in chickpea. Korean Journal of Crop Science 50: 256-261.

32. Tadayyon, M.R., and Ghorbaninejad, A.J. 2012. Effect of supplementary irrigation and compost application on morphological traits and yield of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Iranian Journal of Pulses Research 3(2): 31-44. (In Persian with English Summary).
33. Verma, S., Varma, A., Rexer, K., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B., and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen: A new root-colonizing fungus. Mycologia 95: 896-903.
34. Zaidi, A., Khan, M.S., and Amil, M. 2003. Interactive effects of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). European Journal of Agronomy 19: 15-21.
35. Zare Mehrjerdi, M., Bagheri, A.R., and Vesal, S. 2011. Selective method for low temperature tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). First National Conference of Pulses. (In Persian with English Summary).

Evaluation of the effect of chickpea seeds inoculation with rhizobium, arbuscular mycorrhiza and like-endo mycorrhiza on yield and yield components of chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.)

Arshadi¹, M.J., Parsa^{2*}, M., Lakzian³, A. & Kafi⁴, M.

1. Ph.D Student of Crop Physiology, Department of Agronomy, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2. Associate Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad
3. Professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
4. Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 08 June 2015

Accepted: 01 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.47392

Introduction

In Iran, among pluses, chickpea has been allocated the most area under cultivation. However, the yield average of water and dry chickpea is 1000 and 500 kg per hectare, respectively and among the producer countries of this product, the yield average is low. One of the factors which could be effective in increasing yield of chickpea is its symbiosis with the mycorrhizal fungi. Mycorrhizal fungi because of stimulating the development of the root system of plants can affect food absorption. In addition to, mycorrhizal fungi specially provide biological phosphorus absorption for plants involved. Among them, the endo mycorrhiza (or Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) that abbreviated VAM, in creation of symbiosis with the roots of chickpea have been more successful. The mycorrhizal fungi and rhizobium bacteria before create symbiosis with host plant, directly affect the overlay in rhizosphere environment of host plant. Studies have shown that the VAMs (which are newly named AMF¹) are generally belong to *Zigomycota* groups and ecto-mycorrhiza are mainly to *Basidiomycota*. However recently a new species of *Basidiomycota* has been identified with name of *Piriformospora indica* that acts as AMF and is an entophyte fungus. That is why it is called to be like-endo mycorrhiza. However, the Triplet symbiosis of chickpea, mycorrhiza and rhizobium and also chickpea genotypes response to this symbiosis should be examined.

Materials & Methods

In order to investigate the inoculation of kabuli seeds of chickpea genotypes with arbuscular mycorrhiza and like-endo mycorrhiza, an experiment was conducted in 2014, in split plot by arrangement of two - factors with a randomized complete block design and three replications in research field at Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Main plots were consisted of three levels of mycorrhiza (arbuscular mycorrhiza of *Glomus mosseae*, like-endo mycorrhiza of *Piriformospora indica* and non - used mycorrhiza) and sub plots were consisted of nine genotypes of chickpea: MCC 80, MCC 358, MCC 361, MCC 392, MCC 427, MCC 537, MCC 693, MCC 696 and MCC 950. (These genotypes had good yield potentials and selection and presented in the studies on germplasm from the Institute of Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad seed bank). All seeds of genotypes were infected to the symbiotic rhizobium bacteria of chickpea.

*Corresponding Author: parsa@um.ac.ir, Mobile: 09155174195

¹ Arbuscular Mycorrhizal Fungi

Results & Discussion

The results indicated that mycorrhiza significantly increased seed and biological yield, harvest index and number of pods per plant. The effect of mycorrhiza was not significant on number of seeds in pod and weight of 1000 seeds. Among the genotypes in this study, the highest seed and biological yield and number of pods per plant was dedicated to genotype MCC 537. Genotypes MCC 80, MCC 537 and MCC 392 showed highest harvest index significantly. The highest weight of 1000 seeds was assigned to the genotype of MCC 392. There was not significant differences between genotypes due to the number of seeds per pod. In the study the interactions effects was observed between mycorrhizal and chickpea genotypes that the highest seed and biological yield belonged to the factor of arbuscular mycorrhiza-MCC 537 genotype and the highest harvest index belonged to the factor of arbuscular mycorrhiza-MCC 80 genotype.

Conclusion

Application of dual inoculation of mycorrhiza and rhizobium could improve the uptake of yield and yield components in chickpea genotypes. Application of like-endo mycorrhiza had not significant effect on seed production and yield components on chickpea. In a general conclusion, among the studied genotypes, MCC 537 and MCC 427 were better than the others.

Key words: Arbuscular mycorrhiza, Chickpea, Like-endo mycorrhiza, Triplet symbiosis

تأثیر امواج فراصوت و پرایمینگ بذر در تلفیق با مدیریت علف‌های هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی (*L. Vigna sinensis*)

عباس نصیری دهسرخ^۱، حسن مکاریان^{۲*}، منوچهر قلی‌پور^۲ و حمید عباس‌دخت^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۱۳

چکیده

به منظور بررسی تأثیر امواج فراصوت و پرایمینگ بذر بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی رقم محلی بسطامی در رقابت با علف‌های هرز، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل امواج اولتراسونیک (فرکانس ۲۰ kHz) + عدم وجین، امواج اولتراسونیک + وجین (تمام فصل)، امواج اولتراسونیک + علف‌کش تریفلورالین (۴۸ درصد EC) با دوز کاهش یافته (یک لیتر در هکتار)، امواج اولتراسونیک + تریفلورالین با دوز توصیه شده (۲ لیتر در هکتار)، هیدروپرایمینگ (به مدت هفت ساعت) + عدم وجین، هیدروپرایمینگ + وجین، هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته، هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه شده، عدم وجین، وجین تمام فصل، علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه شده و علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته بودند. نتایج نشان داد کاربرد تیمارهای امواج اولتراسونیک و پرایمینگ در ترکیب با دوز کاهش یافته علف‌کش تریفلورالین توانست به اندازه دوز کامل این علف‌کش، تراکم و وزن خشک علف‌های هرز را کاهش و عملکرد دانه لوبیا را افزایش دهد. تیمار ترکیبی امواج اولتراسونیک + وجین تمام فصل علف‌هرز، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک لوبیا را به ترتیب ۶۲ و ۵۲/۳ درصد نسبت به تیمار عدم وجین افزایش داد. همچنین کاربرد هیدروپرایمینگ + علف‌کش کاهش یافته و امواج اولتراسونیک + علف‌کش کاهش یافته به ترتیب سبب کاهش ۶۱ و ۴۶/۵ درصدی زیست توده کل علف‌های هرز نسبت به تیمار کاربرد علف‌کش با دوز کاهش یافته به تنهایی گردید. بر اساس نتایج این آزمایش با کاربرد امواج اولتراسونیک و همچنین پرایمینگ در تلفیق با دوز کاهش یافته علف‌کش تریفلورالین می‌توان ضمن کاهش معنی‌دار وزن خشک علف‌های هرز، عملکردی معادل تیمار وجین تمام فصل یا مصرف دوز کامل علف‌کش به دست آورد.

واژه‌های کلیدی: استقرار اولیه، تریفلورالین، مدیریت تلفیقی علف‌هرز

مقدمه

(Hartwig & Ammon, 2002). با وجود این، استفاده نادرست از این تکنولوژی ممکن است به ایجاد مشکلاتی نظیر پسمان علف‌کش‌ها، آلودگی آب‌های زیرزمینی و مقاوم شدن علف‌های هرز به علف‌کش‌ها منجر شود (Caamal-Maldonado et al., 2001). با توجه به محاسن و تأثیر فوق‌العاده علف‌کش‌ها در دستیابی به حداکثر عملکرد، حذف کامل آن‌ها از برنامه‌های مدیریتی معقولانه و عملی نیست. بنابراین تولید علف‌کش‌های جدید و سوق دادن تحقیقات در جهت استفاده حداقل از مواد شیمیایی با کاربرد علف‌کش‌های قوی و مؤثر با دوز مصرفی کمتر و همچنین کاربرد آن‌ها به صورت اختلاط به منظور کاهش بیوتیپ‌های مقاوم، اثرات کمتر بر محیط زیست و کنترل توأم علف‌های هرز پهن‌برگ و

لوبیا در بین حبوبات در جهان دارای بیشترین سطح زیرکشت است. دانه‌های این گیاه با داشتن حدود ۲۲ درصد پروتئین از نظر ارزش غذایی جایگزین خوبی برای پروتئین‌های حیوانی است (Bagheri et al., 2001). علف‌های هرز به عنوان یکی از موانع تولید حداکثری عملکرد در لوبیا به شمار می‌روند. بر اساس آمارهای موجود، ۹۴ درصد مناطق لوبیاکاری ایران با مشکل علف‌هرز مواجه هستند (Bagheri et al., 1998). یکی از ابزارهای مناسب در استراتژی مدیریت علف‌های هرز در مزارع گیاهان زراعی از جمله لوبیا، استفاده از علف‌کش‌ها می‌باشد

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۵۳۵۹۸۴۰۴، h.makarian@yahoo.com

رقابت گیاه با علف‌هرز شده و در نهایت زمینه افزایش زیست‌توده و عملکرد را فراهم نماید (Nasiri Dehsorkhi et al., 2015).

تریفلورالین (ترفلان) از جمله علف‌کش‌هایی است که در خاک و قبل از کاشت مصرف می‌شود و پرمصرف‌ترین علف‌کش خانواده دی‌نیترو آنیلین‌ها بوده که تقریباً بذر همه علف‌های هرز باریک‌برگ و نیز تعداد زیادی از علف‌های هرز پهن‌برگ را کنترل می‌کند (Moradbeygi & Khara, 2011; Zand et al., 2007). تریفلورالین علف‌کشی است خاک مصرف که از طریق جلوگیری از تشکیل رشته‌های دوک در تقسیم میتوز باعث اختلال در تقسیم سلولی و طویل‌شدن سلول‌ها و جلوگیری از سبز شدن بذر علف‌های هرز می‌گردد. اما این علف‌کش می‌تواند تأثیرات منفی خود را روی سبز شدن گیاهان زراعی حساس نیز نشان دهد که در سویا (*Glycine max* L.) جلوگیری از رشد به‌وسیله تریفلورالین با توقف تقسیمات سلولی در بافت‌های مریستمی گزارش شده است (Talbert, 1965). در مطالعه تأثیر وجین و علف‌کش‌های مختلف بر کنترل علف‌های هرز لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) مشاهده شد که بهترین کنترل علف‌هرز هنگام مصرف علف‌کش پیش‌کاشت تریفلورالین و انجام دو مرحله وجین پس از سبز شدن حاصل شد (Sadeghipour & Ghaffari Khaligh, 2005).

با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام شده، به‌نظر می‌رسد اعمال پرایمینگ و امواج اولتراسونیک می‌تواند از طریق بهبود استقرار گیاهچه نقش مؤثری در قابلیت رقابت گیاه لوبیا چشم‌بلبلی با علف‌های هرز و کاهش مصرف علف‌کش‌ها داشته باشد. از طرفی تأثیر کاربرد علف‌کش تریفلورالین در خاک بر بذور پرایم‌شده و تیمار شده با امواج اولتراسونیک تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر امواج اولتراسونیک و پرایمینگ بذور بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی در شرایط کاربرد علف‌کش تریفلورالین انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود (طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۷ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۳۴۵ متر از سطح دریا) اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۱- کاربرد امواج اولتراسونیک (فراصوت) + عدم وجین، ۲- کاربرد امواج اولتراسونیک + وجین (تمام‌فصل)، ۳- کاربرد امواج اولتراسونیک + علف‌کش تریفلورالین با دوز

باریک‌برگ با یک‌بار سم‌پاشی و کاهش هزینه‌ها همواره مدنظر می‌باشد (Goodarzi et al., 2006). بنابراین هر تلاشی در جهت مدیریت تلفیقی علف‌های هرز و جایگزین کردن علف‌کش‌ها با روش‌هایی جدید و بدون عارضه مانند امواج اولتراسونیک و پرایمینگ می‌تواند در تولید محصولات سالم اهمیت زیادی داشته باشد.

امواج فراصوت، امواج مکانیکی هستند که فرکانس آن‌ها بیش از ۲۰ کیلوهرتز بوده و دارای انرژی بالایی هستند و می‌توانند سبب بالارفتن دمای بافت‌ها شوند (Lipiec et al., 2004). در همین راستا، پژوهشگران کاهش ۳۰ تا ۴۵ درصدی زمان جوانه‌زنی و افزایش درصد جوانه‌زنی را پس از تیمار بذور جو (*Hordeum vulgare* L.) با امواج فراصوت گزارش کردند. آن‌ها بیان کردند که در اثر تیمار با امواج فراصوتی، نفوذپذیری پوسته جو نسبت به آب افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش حجم دانه است و آب به‌راحتی و در حجم بیشتری در اختیار دانه قرار می‌گیرد و در نهایت جوانه‌زنی بهتر، سریع‌تر و بیشتر صورت می‌گیرد. افزایش سیالیت دیواره سلولی در نتیجه حرکت عناصر غذایی موجود در آندوسپرم، احتمالاً یکی از دلایل افزایش جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز می‌باشد (Yaldagard et al., 2008). تأثیر مثبت امواج فراصوت بر خصوصیات جوانه‌زنی توسط محققان دیگری نیز گزارش شده است (Maleki-Farahani & Fahiminejad, 2011; Marghaeizadeh et al., 2014; Mirshekari et al., 2013).

از سوی دیگر پرایمینگ نیز به روش‌های مختلف بهبود دهنده جوانه‌زنی بذور اطلاق می‌شود که در تمامی آن‌ها آب دهی کنترل‌شده بذر اعمال می‌شود (Duman, 2006). گزارش‌های بسیار زیادی حاکی از بهبود رفتار جوانه‌زنی و شاخص‌های مربوط به آن در بذور پرایم‌شده می‌باشد (Elkoca et al., 2007). محققان علت تسریع در جوانه‌زنی در بذور پرایم‌شده را ناشی از فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده مثل آلفا‌آمیلاز، افزایش سطح شارژ انرژی زیستی در قالب افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز DNA و RNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقای عملکرد میتوکندری‌ها اعلام کردند (Afzal et al., 2002). افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاه زراعی در ابتدای فصل می‌تواند موجب افزایش قدرت رقابتی گیاه زراعی و کاهش خسارت علف‌های هرز گردد (Neisi et al., 2015). محققان نشان داده‌اند استفاده از امواج اولتراسونیک و پرایمینگ بذور از طریق افزایش سرعت فرایندهای مؤثر در جوانه‌زنی و سرعت سبز شدن بذور و بهره‌برداری زودتر گیاه از منابع غنی در ابتدای فصل، می‌تواند باعث بهبود ویژگی‌های گیاهچه و افزایش قابلیت

علف‌های هرز بر حسب گونه‌های باریک و پهن‌برگ شمارش و کف‌بر شدند. نمونه‌برداری از علف‌های هرز در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک لوبیا انجام شد. جهت تعیین ماده خشک، علف‌های هرز مربوط به هر کادر در پاکت‌های کاغذی مجزا در داخل آون الکتریکی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس توزین شدند.

آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار MSTATC نسخه ۴ و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تراکم و وزن خشک علف‌های هرز

بر اساس نتایج به دست آمده، گونه‌های علف‌هرز غالب مزرعه آزمایشی شامل سوروف (*Echinochloa crus-galli*)، سلمه‌تره (*Chenopodium album* L.) و تاتوره (*Datura stramonium* L.) بودند که البته بالاترین تراکم مربوط به علف‌هرز سوروف بود.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر روش‌های مدیریتی مختلف بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که همه تیمارهای به کار رفته، تراکم و وزن خشک زیست‌توده هوایی علف‌های هرز را نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (جدول ۲).

بین تیمارهای کاربرد علف‌کش تریفلورالین ۲ و یک لیتر در هکتار با تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز از نظر تراکم و تولید ماده خشک علف‌های هرز تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که کاربرد علف‌کش تریفلورالین به میزان دو و یک لیتر در هکتار در مقایسه با شاهد بدون کنترل به ترتیب باعث کاهش ۷۹ و ۴۷ درصدی تولید ماده خشک علف‌های هرز و ۷۸/۳ و ۳۷/۳ درصدی تراکم علف‌های هرز شد.

در این راستا گزارش شده است که علف‌کش تریفلورالین توانست به خوبی علف‌های هرز سلمه‌تره و سوروف (علف‌های هرز غالب در آزمایش ما) را در مزرعه نخود (*Cicer arietinum* L.) کنترل نماید (Abbassian et al., 2013). در پژوهشی که به منظور مقایسه علف‌کش‌های مختلف در کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ لوبیا انجام شد، بیشترین درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز در تیمار کاربرد علف‌کش تریفلورالین گزارش گردید (Farajee & Amiri, 2010).

کاهش یافته (یک لیتر در هکتار)، ۴- کاربرد امواج اولتراسونیک + تریفلورالین با دوز توصیه شده (۲ لیتر در هکتار)، ۵- هیدروپرایمینگ + عدم وجین، ۶- هیدروپرایمینگ + وجین، ۷- هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته، ۸- هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه شده، ۹- عدم وجین، ۱۰- وجین تمام فصل، ۱۱- علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه شده و ۱۲- علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته بودند.

پس از انجام عملیات خاک‌ورزی و آماده‌شدن کرت‌ها، کشت در اواسط خردادماه در ردیف‌هایی به فاصله ۶۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر انجام گرفت. به منظور عدم اختلاط آب آبیاری بین دو تکرار، دو جوی در نظر گرفته شد که یکی به منظور رساندن آب به هر تکرار و دیگری به منظور خروج آب زهکش تکرار بالایی بود. برای هر تیمار در هر کرت، چهار خط کاشت شش متری در نظر گرفته شد.

بذر مورد استفاده توده محلی لوبیا چشم‌بلبلی بود که از منطقه بسطام شهرستان شاهرود تهیه شد.

علف‌کش ترفلان (تریفلورالین ۴۸ درصد EC) با دو غلظت توصیه شده (۲ لیتر در هکتار) و کاهش یافته (یک لیتر در هکتار) قبل از کشت بذور، با سم‌پاش ماتابی شارژی ساخت اسپانیا با نازل بادبزی (تی‌جت) و با حجم محلول ۳۰۰ لیتر در هکتار در کرت‌های مربوطه به کار برده شد و بلافاصله با خاک مخلوط گردید. بذورهای مربوط به تیمار هیدروپرایمینگ نیز قبل از کشت به مدت هفت ساعت در آب خیسانده شدند سپس در کرت‌های مربوطه کشت گردید. همچنین بذور قبل از صوت دهی نیز به مدت هفت ساعت در آب خیسانده شدند. برای اعمال امواج فراصوت از حمام فراصوت (Digital ultrasonic مدل CD_۴۸۲۰) با فرکانس ثابت ۲۴ کیلوهرتز به مدت شش دقیقه در دمای محیط در آب مقطر، استفاده گردید. سپس بذور صوت‌دهی شده به همراه سایر بذور جهت کاشت به مزرعه منتقل شدند.

جهت تعیین عملکرد دانه تعداد پنج بوته در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک برداشت شد. دانه‌های موجود در غلاف جداسازی و بعد از شمارش تعداد دانه با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱+ وزن شدند و در نهایت عملکرد بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه گردید.

جهت تعیین فلور علف‌های هرز، پس از حذف اثر حاشیه‌ای، در هر تیمار کوادراتی به مساحت یک مترمربع به‌طور تصادفی در سه نقطه از هر کرت قرار داده شد و تعداد

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه علف‌های هرز تحت تیمارهای آزمایش

Table 1. Analysis of variance of weed population characteristics as affected by trial treatments

منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	Mean of Squares میانگین مربعات					
		تعداد کل علف‌های هرز Total weed density	وزن خشک کل علف‌های هرز Total weed dry weight	تعداد باریک برگ‌ها Number of narrow leaf weeds	وزن خشک باریک برگ‌ها Narrow leaf weeds dry weight	تعداد پهن برگ‌ها Number of broad leaf weeds	وزن خشک پهن برگ‌ها Broad leaf weeds dry weight
تکرار Replication	3	790.722	1347.113	120.632	335.159	294.243	408.565
تیمار Treatment	11	15482.636**	24320.718**	4089.521**	5640.687**	3716.521**	6651.604**
خطا Error	33	438.51	606.247	111.874	118.285	124.879	242.844
ضریب تغییرات C.V (%)		28.11	26.94	27.28	26.03	31.28	31.41

** بیانگر معنی داری در سطح احتمال یک درصد

** Significant P<0.01

می‌باشد، در حالی که تلفیق آن با سایر تکنیک‌های زراعی می‌تواند مقدار سم و تعداد سم‌پاشی را کاهش دهد (Norsworthy & Frederick, 2005). گزارش شده است تیمار بذور گیاه بومادران (*Achillea millefolium* L.) با امواج فراصوت، افزایش جوانه‌زنی و وزن خشک گیاه نسبت به شاهد را به همراه داشت (Mirshekari et al., 2013). Elkoca et al (2007) نیز گزارش دادند هیدروپرایمینگ باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذور نخود گردید. به نظر می‌رسد تسریع در جوانه‌زنی بذور در اثر پرایمینگ و امواج اولتراسونیک باعث افزایش زیست‌توده لوبیا چشم‌بلبلی و قابلیت رقابت آن می‌گردد که در نهایت می‌تواند کاهش زیست‌توده علف‌های هرز را به دنبال داشته باشد. در همین راستا گزارش شده است که با افزایش زیست‌توده ذرت (*Zea mays* L.)، ماده خشک علف‌هرز در واحد سطح کاهش می‌یابد (Johnson & Hoverstad, 2002). همچنین نتایج این پژوهش نشان داد علف‌کش توصیه‌شده تریفلورالین (۲ لیتر در هکتار) توانست به‌طور مؤثرتری تراکم و وزن خشک علف‌های هرز را نسبت به علف‌کش کاهش‌یافته (یک لیتر در هکتار) کنترل کند. علف‌کش توصیه‌شده باعث کاهش تراکم و ماده خشک تولیدی علف‌هرز به ترتیب به میزان ۶۵/۴ و ۶۰ درصد نسبت به علف‌کش کاهش‌یافته گردید. (Mahzari et al, 2013) گزارش دادند افزایش میزان دوز تری‌فلورالین از ۱/۵ به ۲ لیتر موجب اختلاف آماری معنی‌دار بر کنترل وزن خشک علف‌های هرز مزارع سیر (*Allium sativum* L.) شد، اما بین مصرف ۲ و ۲/۵ لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشان داد علف‌کش

نتایج نشان داد که بعد از تیمارهای وجین تمام‌فصل، کمترین تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مربوط به تیمارهای علف‌کش توصیه‌شده، پرایمینگ+علف‌کش کاهش‌یافته و اولتراسونیک + علف‌کش کاهش‌یافته بود که از نظر معنی‌داری در یک گروه آماری قرار داشتند (جدول ۲). تیمار ترکیبی پرایمینگ+علف‌کش کاهش‌یافته باعث کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز به ترتیب به میزان ۷۷ و ۷۹/۳ درصد نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز گردید. همچنین کاربرد ترکیبی امواج اولتراسونیک+علف‌کش کاهش‌یافته باعث کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز به ترتیب به میزان ۷۱ و ۷۱/۶ درصد نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز گردید. تیمارهای مذکور توانستند تراکم و وزن خشک علف‌های هرز را به اندازه دوز توصیه‌شده علف‌کش تریفلورالین (۲ لیتر در هکتار) کاهش دهند. از آنجاکه تریفلورالین روی علف‌های هرز پهن‌برگی مثل پنیرک (*Malva sylvestris* L.)، توبق (*Xanthium strumarium* L.)، تاتوره (*Datura stramonium* L.) و تاجریزی سیاه (*Solanum nigrum* L.) تأثیر کافی ندارد (Sadeghipour & Ghaffari Khaligh, 2005)، لذا چنانچه علف‌های هرز مذکور در لیست علف‌های هرزی باشند که توسط تریفلورالین کنترل می‌شوند، استفاده از تیمارهای امواج اولتراسونیک و پرایمینگ در ترکیب با وجین یا علف‌کش کاهش‌یافته جهت مبارزه با علف‌های هرز، کارآمد به نظر می‌رسند.

گزارش شده است که برای کنترل مؤثر علف‌های هرز با استفاده از علف‌کش‌ها به مقدار بیشتر سم و تکرار سم‌پاشی نیاز

امواج فراصوت و پرایمینگ در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور، به نظر می‌رسد گیاهانی که زودتر سبز می‌شوند، با استفاده بهتر از منابع محیطی از وضعیت رشد بهتری برخوردار شده و می‌توانند قابلیت رقابت بیشتری با علف‌های هرز داشته باشند. از طرفی تأثیر ترفلان بر کاهش سبز شدن بذور علف‌های هرز و تلفیق آن با پیش‌ تیمار بذری، می‌تواند تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز را به‌طور مؤثری کاهش دهد. تحقیقات نشان داده است که در زراعت لوبیا برای مهار مؤثر علف‌های هرز، باید روش‌های زراعی و شیمیایی توأم مورد استفاده قرار گیرند، چون این امر باعث فشار بیشتر بر علف‌های هرز، افزایش عملکرد و سوددهی محصول می‌شود (Shakh *et al.*, 2006). لذا تلفیق روش‌های غیر شیمیایی با یکدیگر یا تلفیق آن با دوز کاهش یافته علف‌کش تریفلورالین (یک لیتر در هکتار) می‌تواند گامی در جهت کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از مصرف علف‌کش‌ها و حصول عملکرد مطلوب باشد.

تریفلورالین، علف‌های هرز باریک‌برگ را نسبت به پهن‌برگ‌ها به‌طور مؤثرتری کنترل کرد. این تیمار توانست به اندازه وجین تمام‌فصل، تراکم و وزن خشک علف‌های هرز باریک‌برگ را کاهش دهد و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد عاری از علف‌هرز نداشت.

تریفلورالین پرمصرف ترین علف‌کش خانواده دی‌نیترو آنیلین‌ها بوده که تقریباً بذر همه علف‌کش‌های باریک‌برگ و نیز تعداد زیادی از علف‌های هرز پهن‌برگ را کنترل می‌کند (Zand *et al.*, 2007). نتایج تحقیقات دیگری نیز حاکی است که علف‌کش تریفلورالین نسبت به سایر علف‌کش‌ها تأثیر بهتری در کنترل علف‌های هرز لوبیا دارد و بین این علف‌کش و وجین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (Ramezani *et al.*, 2002). به‌نظر می‌رسد تسریع در جوانه‌زنی بذور در اثر پرایمینگ و امواج فراصوت باعث افزایش زیست‌توده لوبیا چشم‌بلبلی و قابلیت رقابت آن می‌گردد که در نهایت می‌تواند کاهش زیست توده علف‌های هرز را به‌دنبال داشته باشد. با توجه به تأثیر مثبت

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه علف‌های هرز

Table 2. Mean comparison for weed population characteristics as affected by trial treatments

تیمارها Treatments	تعداد کل علف های هرز Total weed density (plant/m ²)	وزن خشک کل علف‌های هرز Total weed dry weight (g/m ²)	تعداد باریک‌برگ‌ها Number of narrow leaf weeds (plant/m ²)	وزن خشک باریک‌برگ‌ها Narrow leaf weeds dry weight (g/m ²)	تعداد پهن‌برگ‌ها Number of broad leaf weeds (plant/m ²)	وزن خشک پهن برگ‌ها Broad leaf weeds dry weight (g/m ²)
T1	81.5 de	100 de	45.75 c	49.42 c	35.75 de	50.61 ef
T2	0 g	0 g	0 f	0 f	0 g	0 g
T3	53.25 ef	67.74 ef	30.25 d	32.37 d	23 ef	35.37 f
T4	141.3 b	162.2 bc	74 b	76.81 b	67.25 b	85.39 bc
T5	93 cd	113.7 d	51.5 c	53.29 c	41.5 cd	60.42 de
T6	0 g	0 g	0 f	0 f	0 g	0 g
T7	42.25 f	49.35 f	23.75 de	20.6 de	18.5 f	28.75 f
T8	143.3 b	187.2 b	73.5 b	88.64 b	69.75 b	98.51 b
T9	184 a	239.1 a	91.25 a	114.5 a	92.75 a	124.7 a
T10	0 g	0 g	0 f	0 f	0 g	0 g
T11	40 f	50.62 f	15 ef	14.38 ef	25 ef	36.24 f
T12	115.5 bc	126.8 cd	60.25 bc	51.34 c	55.25 bc	75.49 cd

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

Means within each column followed by the same letter are not different at 5% level according to least significance difference (LSD) test.

T1: امواج اولتراسونیک (فراصوت) + عدم وجین، T2: امواج اولتراسونیک + وجین (تمام‌فصل)، T3: امواج اولتراسونیک + علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته (یک لیتر در هکتار)، T4: امواج اولتراسونیک + تریفلورالین با دوز توصیه‌شده (۲ لیتر در هکتار)، T5: هیدروپرایمینگ + عدم وجین، T6: هیدروپرایمینگ + وجین، T7: هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته، T8: هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه‌شده، T9: عدم وجین، T10: وجین تمام‌فصل، T11: علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه‌شده، T12: علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته.

T1: ultrasonic waves (ultrasound) + no weeding, T2: ultrasonic waves + weeding (all season), T3: ultrasonic waves + reduced herbicide dose (trifluralin 1 L.ha⁻¹), T4: ultrasonic waves + the recommended herbicide dose (2 L.ha⁻¹), T5: hydro-priming + no weeding, T6: hydro-priming + weeding, T7: hydro-priming + reduced herbicide dose, T8: hydro-priming + recommended herbicide dose, T9: no weeding, T10: weeding (all season), T11: recommended herbicide dose, T12: reduced herbicide dose.

عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا

تعداد غلاف در بوته

نتایج نشان داد تیمارهای آزمایش به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) تعداد غلاف در بوته را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد بیشترین تعداد غلاف در بوته در تیمار علف‌کش توصیه‌شده مشاهده شد که نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز افزایش ۵۰ درصدی را به‌همراه داشت (جدول ۴). احتمالاً عدم حضور علف‌های هرز و عدم رقابت آن‌ها در این تیمار سبب باروری تعداد گل بیشتری شده و در نتیجه تعداد غلاف بیشتری در گیاه تشکیل شده است. کمترین تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز بود که البته با تیمارهای امواج اولتراسونیک + علف‌کش توصیه‌شده و پرایمینگ + علف‌کش توصیه‌شده از نظر معنی‌داری در یک گروه آماری قرار داشتند. در راستای نتایج این آزمایش، (Woolley et al., 1993) نیز گزارش دادند تعداد غلاف در بوته لوبیاسفید (*Phaseolus vulgaris* L.) به‌طور معنی‌داری با افزایش مدت تداخل علف‌های هرز پس از کاشت کاهش یافت. تحقیقات نشان داده‌اند، با افزایش تراکم علف‌های هرز، کمبود مواد غذایی قابل‌دسترس در سطوح زیرین پوشش گیاهی در محیط‌های متراکم سبب افزایش درصد ریزش گل‌ها در حین تلقیح یا پس از آن می‌گردد و به عبارتی دیگر به‌منظور ایجاد موازنه بین مواد فتوسنتز و مقدار تنفس و ذخیره مواد، تعدادی از گل‌های تشکیل‌دهنده غلاف به‌طور فیزیولوژیکی حذف می‌شوند و علاوه‌بر این، تعداد شاخه‌های فرعی کمتری نیز تولید می‌گردد (Khan & Mumtaz, 1995). به‌نظر می‌رسد مجموع این عوامل، کاهش تعداد غلاف در بوته را در شرایط وجود علف‌هرز به‌همراه خواهد داشت. همچنین نتایج ما نشان داد کاربرد ترکیبی بذور پیش‌تیمارشده با علف‌کش توصیه‌شده (۲ لیتر در هکتار) باعث کاهش معنی‌دار مهم‌ترین جزء عملکرد لوبیا یعنی تعداد غلاف در بوته گردید. این نتیجه را می‌توان به سمیت علف‌کش ترفلان در غلظت‌های بالا به‌ویژه در بذور پیش‌تیمارشده نسبت داد. از آنجاکه تریفلورالین باعث کاهش وزن خشک ریشه و ممانعت از تشکیل ریشه‌های جانبی می‌شود، جذب آب و عناصر غذایی و در نتیجه رشد اندام‌های هوایی را کاهش می‌دهد (Harvey, 1973; Bayer et al., 1967; Lund et al., 1970).

نتایج نشان داد بعد از تیمار علف‌کش توصیه‌شده، بیشترین تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمارهای امواج اولتراسونیک + و جین، پرایمینگ + و جین و اولتراسونیک + علف‌کش کاهش‌یافته بود که از نظر معنی‌داری در یک گروه

آماری قرار داشتند. گزارش شده است که تیمار امواج اولتراسونیک باعث افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته لوبیا چشم‌بلبلی (Ebadi, 2014) گردید. همچنین در پژوهشی بیشترین تعداد چتر در بوته گیاه زنیان (*Carum copticum* L.) از تیمار پنج دقیقه امواج فراصوت و کمترین در تیمار عدم امواج‌دهی مشاهده شد (Marghaeizadeh et al., 2014).

(Kaur et al., 2005) گزارش دادند هیدروپرایمینگ و پرایمینگ اسمزی با مانیتول چهار درصد در مقایسه با عدم پرایمینگ سبب افزایش تعداد شاخه‌ها، گل‌ها و غلاف‌ها گردید. به‌نظر می‌رسد تیمارهای دارای پرایمینگ و امواج اولتراسونیک از طریق بهبود رشد لوبیا چشم‌بلبلی و افزایش قدرت رقابت آن با علف‌های هرز و تیمار کاربرد علف‌کش ۲ لیتر در هکتار از طریق کنترل مطلوب علف‌های هرز زمینه افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته لوبیا چشم‌بلبلی را فراهم آورده اند.

تعداد دانه در غلاف

نتایج نشان داد که هیچ‌کدام از ترکیب‌های تیماری به کاررفته تأثیر معنی‌داری بر تعداد دانه در غلاف نداشتند (جدول ۳). گزارش‌های متعددی مبنی بر عدم تأثیرپذیری تعداد دانه در غلاف از عوامل محیطی توسط محققان گزارش شده است. (Ghanbari & Taheri Mazandarani, 2003) گزارش دادند کنترل علف‌های هرز تأثیر معنی‌داری در افزایش تعداد غلاف در بوته و وزن صدانه لوبیا داشت، اما اثر آن روی تعداد دانه در غلاف معنی‌دار نبود. محققان معتقدند که اجزای عملکرد مانند اندازه دانه، تعداد غلاف در گیاه و تعداد دانه در غلاف از طریق ژنتیکی کنترل می‌شوند (Hansen & Shibles, 1987). در حبوبات تعداد دانه در غلاف با ثبات‌ترین جزء عملکرد است، زیرا تعداد سلول‌های تخم در همه تخمدان‌ها برابر است و کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و بنابراین اثر آن در نوسانات عملکرد به‌مراتب کمتر از سایر اجزای عملکرد است (Koocheki & Banayan, 1994). نتایج اکثر مطالعات نشان داده که تعداد دانه در غلاف نسبت به سایر صفات اجزای عملکرد لوبیا از حساسیت کمتری نسبت به شرایط زراعی و همچنین رقابت علف‌های هرز برخوردار است (Hansen & Shibles, 1987). بنابراین به‌نظر می‌رسد رقم لوبیا چشم‌بلبلی استفاده‌شده در این آزمایش (رقم بسطامی) توانسته است بدون تأثیرپذیری به‌وسیله شرایط محیطی و رقابت علف‌های هرز معادل سایر تیمارها دانه در غلاف تولید کند.

وزن صددانه

تأثیر ترکیب‌های تیماری مختلف بر وزن صددانه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (جدول ۴) نشان داد بیشترین وزن صددانه در تیمارهای امواج اولتراسونیک + وجین و علف‌کش توصیه‌شده مشاهده شد که به ترتیب باعث افزایش ۳۶ و ۳۳/۳ درصدی نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز گردیدند. کمترین وزن صددانه مربوط به تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز بود که البته بین تیمار مذکور و تیمارهای امواج اولتراسونیک + علف‌کش توصیه‌شده و پرایمینگ + علف‌کش توصیه‌شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (Makarjian, 2002) کاهش وزن صددانه ذرت را به دلیل کاهش دوام سطح برگ در اثر تنش رقابت علف‌های هرز روی ذرت در مرحله پرشدن دانه‌ها گزارش کرد. در نتایج حاصل از آزمایش ما نیز کاهش معنی‌دار وزن صددانه لوبیا چشم‌بلبلی با افزایش جمعیت علف‌های هرز مشاهده شد.

همچنین نتایج ما نشان داد تیمارهای ترکیبی امواج اولتراسونیک + علف‌کش کاهش‌یافته و پرایمینگ + علف‌کش کاهش‌یافته توانستند به اندازه تیمار وجین تمام فصل، وزن صددانه گیاه را افزایش دهند. با توجه به این که وجین دستی در سطوح محدود و در صورت وجود کارگر ارزان قابل توجیه است، استفاده از این تیمارهای ترکیبی کارآمدتر به نظر می‌رسند. در همین راستا (Carlson, 2013) گزارش داد استفاده از امواج صوتی می‌تواند نیاز برای علف‌کش‌ها را کاهش دهد. همچنین

نتایج نشان داد تیمارهای امواج اولتراسونیک + عدم وجین و پرایمینگ + عدم وجین از نظر تولید وزن صددانه با تیمار علف‌کش کاهش‌یافته در یک گروه آماری قرار داشتند. آنچه که از این نتیجه می‌توان استنباط کرد این است که گرچه مصرف علف‌کش کاهش‌یافته توانسته وزن صددانه لوبیا چشم‌بلبلی را نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز افزایش دهد، اما تأثیر سوء زیست‌محیطی این ماده شیمیایی حتی در دوزهای پایین هم قابل چشم‌پوشی نیست. افزایش وزن صددانه در تیمارهای پرایمینگ، احتمالاً به واسطه وزن زیست‌توده بیشتر و امکان انتقال مجدد مواد فتوسنتزی از اندام‌های رویشی به دانه در این تیمارها بوده است. افزایش وزن دانه عمدتاً از افزایش طول دوره یا سرعت پُرسدن دانه می‌باشد که در این مورد قدرت مخزن نقش کلیدی دارد. (Kaur et al., 2005) به افزایش قدرت مخزن در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های اینورتاز و ساکارز سینتاز در دیواره غلاف گیاهان حاصل از بذور پرایم شده خود اشاره کرده‌اند که موجب پُرسدن بهتر دانه می‌شود. در ذرت گزارش شد که هیدروپرایمینگ در مقایسه با شاهد، متوسط وزن هزاردانه را به میزان ۱۳ درصد افزایش داد (Moradi, 2009). (Dezfuli et al., 2009). افزایش وزن دانه در اثر اعمال امواج فراصوت در گیاهان لوبیا چشم‌بلبلی (Ebadi, 2014)، زنیان (Marghaeizadeh et al., 2014) و ذرت (Rajabian, 2013) نیز گزارش شده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده

Table 3. Analysis of variance for yield and yield components of cowpea as affected by trial treatments

منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	Mean of Squares میانگین مربعات					
		تعداد غلاف دربوته Number of pod in plant	تعداد دانه در غلاف Number of seed in pod	وزن صددانه 100-seed weight	عملکرد دانه Grain yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت Harvest index
تکرار Replication	3	2.806	1.076	13.857	12458.28	97719.59	1.478
تیمار Treatment	11	14.356 **	2.203 ns	38.456 **	1200965.78 **	5910169.94 **	52.313 *
خطا Error	33	0.533	1.137	1.438	93380.92	125912.34	19.938
ضریب تغییرات C.V (%)		8.38	15.28	6.03	15.82	6.14	13.59

ns و ** به ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد

 ns, * and **: Non significant and significant $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively

در اثر کاربرد بذور پرایم شده (در آزمایش ما هیدروپرایمینگ و امواج فراصوت) مدت زمان جوانه زنی و ظهور گیاهچه به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. در پی این امر گسترش تاج پوش گیاهی در مزرعه حاصل از کاشت بذور پرایم شده سریع تر می‌باشد. این امر در کنار جوانه زنی یکنواخت تر این بذور باعث می‌شود سهم تعرق از تخلیه رطوبتی افزایش یابد. از آنجاکه بر خلاف تبخیر، تعرق رابطه نزدیکی با تولید آسمیلات و فتوسنتز دارد، لذا این امر باعث بهبود بهره‌برداری از رطوبت خاک توسط گیاهان استقرار یافته از بذور پرایم شده می‌شود (Harris et al., 2002). بنابراین، به طور کلی می‌توان گفت استفاده از امواج اولتراسونیک و پرایمینگ با بهبود درصد و سرعت جوانه زنی بذور لوبیا چشم‌بلبلی، سبب تسریع بهره‌مندی گیاه نسبت به علف‌های هرز از منابع موجود در ابتدای فصل شده که در چنین شرایطی افزایش وزن صددانه گیاه به دور از انتظار نمی‌باشد.

عملکرد دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس معنی‌دار بودن اثر ترکیب‌های تیماری بر عملکرد دانه را در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین عملکرد دانه در تیمارهای مختلف (جدول ۴) نشان داد با کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز، عملکرد دانه افزایش یافت، به طوری که بیشترین عملکرد دانه در تیمار ترکیبی امواج اولتراسونیک+وجین تمام فصل حاصل شد که از نظر معنی‌داری با تیمار علف‌کش توصیه شده در یک گروه آماری قرار داشتند. در توجیه افزایش عملکرد در اثر امواج فراصوت، یکی از دلایل احتمالی، کاهش مرگ گیاهچه‌ها و استقرار بهتر آن‌ها در مزرعه می‌باشد. زیرا یکی از اثرات مفید امواج فراصوت افزایش مقاومت گیاهان به بیماری‌ها و آفات و بهبود بنیه بذر است (Marghaeizadeh et al., 2014). در مقایسه علف‌کش‌های شیمیایی مختلف در کنترل علف‌های هرز لوبیا، مؤثرترین تیمار بر افزایش عملکرد، علف‌کش تریفلورالین بود که با تیمار شاهد عاری از علف‌هرز، در یک کلاس آماری قرار گرفت (Farajee & Amiri, 2010). کمترین عملکرد لوبیا نیز مربوط به تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز در تمام فصل بود که البته بین تیمار مذکور و تیمارهای امواج اولتراسونیک+علف‌کش توصیه شده و پرایمینگ+علف‌کش توصیه شده از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. تیمار عدم وجین در تمام فصل باعث کاهش عملکرد به میزان ۵۰/۵ درصد نسبت به تیمار وجین تمام فصل گردید. در همین راستا در پژوهشی مشخص شد عدم کنترل علف‌های هرز موجب کاهش ۴۱/۲ درصدی عملکرد دانه لوبیا قرمز نسبت به کرت‌های وجین شده گردید (Ghanbari & Taheri

Mazandarani, 2003). به نظر می‌رسد که تداوم رقابت علف‌های هرز با لوبیا چشم‌بلبلی در تمام دوره رشد گیاه منجر به کاهش عملکرد در تیمار عدم وجین علف‌های هرز گردیده است، در حالی که وجین باعث حذف اثرات رقابتی علف‌های هرز بر روی گیاه لوبیا چشم‌بلبلی شده و در نتیجه عملکرد افزایش پیدا کرده است. آنچه از این نتایج می‌توان استنباط کرد این است که کنترل صحیح علف‌های هرز برای حصول عملکرد بالا ضروری است.

همچنین نتایج نشان داد تیمارهای ترکیبی پرایمینگ+وجین، پرایمینگ+علف‌کش کاهش یافته و امواج اولتراسونیک+علف‌کش کاهش یافته توانستند به اندازه علف‌کش توصیه شده و همچنین تیمار وجین تمام فصل علف‌هرز، عملکرد دانه را افزایش دهند. این نتیجه در توافق با گزارش Sabet Zangeneh et al, (2014) است که نشان دادند مبارزه تلفیقی نسبت به سایر روش‌ها در کنترل علف‌های هرز لوبیا مؤثرتر است. اما این در حالی بود که نتایج پژوهش ما نشان داد کاربرد ترکیبی امواج اولتراسونیک و پرایمینگ با دوز توصیه شده علف‌کش (۲ لیتر در هکتار) باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه نسبت به کاربرد این پیش تیمارها و همچنین علف‌کش به تنهایی گردید. یکی از دلایل احتمالی این امر را می‌توان به سمیت علف‌کش تریفلورالین در دوزهای بالا نسبت داد. علف‌کش تریفلورالین می‌تواند تأثیرات منفی خود را روی سبز شدن و رشد گیاهان زراعی در دوزهای بالاتر نشان دهد، به طوری که کاربرد مقادیر بیش از یک میلی گرم تریفلورالین در کیلوگرم خاک، کاهش معنی‌داری در وزن خشک ریشه و شاخساره سویا ایجاد نمود (Behran et al., 1979).

به نظر می‌رسد استفاده از امواج اولتراسونیک و هیدروپرایمینگ، با تسریع سبز شدن بذور و همچنین افزایش طول ریشه باعث می‌شوند که گیاه از منابع موجود در ابتدای فصل استفاده بیشتری کرده و در نتیجه عملکرد گیاه افزایش یابد. از طرفی طویل شدن طول ریشه، گیاه را در معرض علف‌کش بیشتر قرار داده و در نتیجه عملکرد گیاه در تیمارهای دارای علف‌کش همراه با بذور تیمار شده کاهش می‌یابد. همچنین نتایج ما نشان داد تیمارهای اولتراسونیک+عدم وجین و پرایمینگ+عدم وجین باعث افزایش معنی‌دار عملکرد دانه به ترتیب به میزان ۴۰/۲ و ۳۹/۸ درصد نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز گردیدند. در راستای نتایج ما افزایش عملکرد دانه در اثر اعمال تیمار امواج فراصوت در گیاهان ذرت (Rajabian, 2013) و زینان (Marghaeizadeh et al., 2014) نیز گزارش شده است. (Ghassemi-Golezani et al, 2010) نیز نشان دادند که بهبود عملکرد بذر ارقام مختلف لوبیا که به طور

غیرمستقیم با افزایش استقرار گیاهچه و تعداد دانه در مترمربع به دست می‌آید، تحت تأثیر هیدروپرایمینگ می‌باشد.

استفاده از امواج اولتراسونیک و پرایمینگ بذور از طریق افزایش سرعت فرآیندهای مؤثر در جوانه زنی و سرعت سبز شدن بذور و بهره‌برداری زودتر گیاه از منابع غنی در ابتدای فصل می‌تواند باعث بهبود ویژگی‌های گیاهچه و افزایش قابلیت رقابت گیاه با علف‌هرز شده و در نهایت زمینه افزایش زیست‌توده و عملکرد را فراهم نماید (Nasiri Dehsorkhi et al., 2015). به‌طور کلی نتایج آزمایش ما نشان داد گرچه مصرف علف‌کش توصیه‌شده توانست با کنترل مناسب علف‌های‌هرز، عملکرد گیاه را افزایش دهد، اما تأثیر سوء زیست‌محیطی علف‌کش‌ها قابل چشم‌پوشی نیست. در مقابل استفاده از امواج اولتراسونیک و هیدروپرایمینگ بذور در ترکیب با وجین و یا علف‌کش کاهش‌یافته از طریق بهبود رشد گیاه و افزایش قدرت رقابت آن با علف‌های‌هرز می‌تواند ضمن کاهش آلودگی زیست‌محیطی ناشی از مصرف آفت‌کش‌ها، باعث افزایش عملکرد گیاه نیز گردند.

عملکرد بیولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن تیمارهای اعمال شده بر عملکرد بیولوژیک را در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۳). نتایج نشان داد که عملکرد بیولوژیک لوبیا چشم‌بلبلی برای تمامی تیمارهای مدیریتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بدون کنترل بود (جدول ۴). کنترل مؤثر علف‌های‌هرز را می‌توان دلیل افزایش عملکرد بیولوژیک در این تیمارها دانست. (Tewari et al., 2001) افزایش عملکرد بیولوژیک نخود در شرایط کنترل علف‌های‌هرز را گزارش کردند. با توجه به مقایسه میانگین انجام شده حداکثر عملکرد بیولوژیک در تیمار ترکیبی امواج اولتراسونیک+وجین تمام‌فصل حاصل شد، به‌طوری‌که در این تیمار عملکرد بیولوژیک ۵۲/۳ درصد نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز افزایش نشان داد.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد تیمارهای ترکیبی امواج اولتراسونیک+علف‌کش کاهش‌یافته و پرایمینگ+علف‌کش کاهش‌یافته توانستند به اندازه تیمار وجین تمام‌فصل، عملکرد بیولوژیک تولید نمایند. در راستای نتایج ما افزایش عملکرد بیولوژیک در اثر اعمال تیمار امواج فراصوت در گیاه ذرت (Rajabian, 2013) نیز گزارش شده است. همچنین پژوهشی گزارش شد که پرایمینگ بذور ذرت باعث افزایش معنی‌دار عملکرد بیولوژیک نسبت به عدم پرایمینگ گردید (Neisi, 2015). بذور پرایم‌شده پس از قرارگرفتن در بستر خود، زودتر جوانه‌زده و در پی این امر استقرار در گیاهان

حاصل از این بذور، سریع‌تر، بهتر و در عین حال یکنواخت‌تر انجام می‌پذیرد (Abbasdokht, 2012) و سبب رقابت بهتر با علف‌های‌هرز می‌شود. در واقع چنین گیاهانی در مقایسه با گیاهان به‌وجودآمده از بذور پرایم‌نشده در طی زمان کوتاه‌تری سیستم ریشه‌ای خود را گسترش داده و با جذب مطلوب‌تر آب و مواد غذایی و تولید بخش‌های فتوسنتزکننده به مرحله اتوتروفی می‌رسند. از طرفی تحقق چنین شرایطی به‌لحاظ زیستی و اکولوژیکی موقعیت ویژه‌ای به گیاهان حاصل از بذور پرایم‌شده می‌دهد (Duman, 2006). به‌طوری‌که این وضعیت امکان بهره‌برداری مناسب‌تر از نهاده‌های محیطی مثل آب، نور و غیره را به گیاه می‌دهد. همین‌طور در اثر این شرایط، روابط رقابتی لوبیا چشم‌بلبلی و علف‌هرز به سود گیاه تغییر می‌یابد. برآیند این موارد در نهایت می‌تواند منجر به افزایش مدت و سطح فتوسنتزکننده در این گیاهان گردد که متعاقب این امر میزان تثبیت دی‌اکسید کربن و طبعاً آسمیلات تولیدی و همین‌طور ذخیره هیدروکربن‌های غیرساختاری در قسمت‌های مختلف گیاه افزایش یافته و در نتیجه بیوماس تولیدی بیشتر خواهد شد. به‌طور کلی نتایج آزمایش ما نشان داد کاربرد ترکیبی امواج فراصوت و پرایمینگ بذور با دوز کاهش‌یافته علف‌کش تریفلورالین و یا وجین تمام‌فصل می‌تواند در کنترل مطلوب علف‌های‌هرز و افزایش تجمع ماده خشک گیاه لوبیا چشم‌بلبلی مؤثر بوده و ضمن کاهش خسارت علف‌های‌هرز، مصرف علف‌کش‌ها را نیز کاهش دهد.

شاخص برداشت

شاخص برداشت یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیک است که بیانگر درصد انتقال مواد فتوسنتزی از اندام‌های رویشی گیاه به دانه‌هاست. نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن تیمارهای اعمال شده بر شاخص برداشت را در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۳). نتایج نشان داد بیشترین شاخص برداشت گیاه در تیمارهای علف‌کش توصیه‌شده، امواج اولتراسونیک+علف‌کش کاهش‌یافته، پرایمینگ+علف‌کش کاهش‌یافته، اولتراسونیک+وجین و شاهد عاری از علف‌هرز مشاهده گردید که از نظر معنی‌داری در یک گروه آماری قرار داشتند (جدول ۴). آنچه که از این نتایج قابل‌استنباط است، این است که کنترل مؤثر علف‌های‌هرز به‌ویژه روش‌های تلفیقی نقش به‌سزایی در افزایش شاخص برداشت گیاه دارند. در راستای نتایج این آزمایش، کاهش شاخص برداشت ذرت با افزایش دوره‌های تداخل علف‌هرز گزارش شده است (Yadavi et al., 2006).

اختصاص دهند، ولی در عین حال میزان قابل توجهی نیز صرف رشد سبزینه‌ای و زیست‌توده کل گیاه شد. در مجموع با در نظر گرفتن مشکل کاربرد علف‌کش تریفلورالین که کشت بعدی را در معرض خطر قرار می‌دهد (Farajee & Amiri, 2010) و همچنین با توجه به این که وجین دستی علف‌های هرز به دلیل هزینه زیاد کارگری محدودیت کاربردی در سطح وسیعی از مزارع لوبیا دارد، استفاده از پیش تیمارهای بذری مانند پرایمینگ و امواج اولتراسونیک در تلفیق با دوز کاهش یافته علف‌کش به منظور دستیابی به عملکرد و شاخص برداشت بالاتر، کارآمد به نظر می‌رسند.

Ebadi *et al.*, (2014) گزارش دادند اعمال امواج فراصوت به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه باعث افزایش شاخص برداشت لوبیا چشم‌بلبلی به ترتیب به میزان ۵/۶، ۱/۸ و ۱۰/۴ درصد نسبت به شاهد گردید. همچنین در پژوهشی نتایج نشان داد پرایمینگ بذور لوبیا چشم‌بلبلی باعث افزایش شاخص برداشت گیاه نسبت به شاهد (عدم پرایمینگ) گردید (Pakmehr *et al.*, 2011). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تیمارهایی که توانستند با کنترل مناسب، رقابت علف‌های هرز را با لوبیا چشم‌بلبلی کاهش دهند، منابع بیشتری را در اختیار لوبیا قرار داده و توانستند قسمت بیشتر شیره پرورده را به تولید دانه

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه لوبیا چشم‌بلبلی

Table 4. Mean comparison for yield and some of yield components of cowpea as affected by trial treatments					
تیمارها	تعداد غلاف در بوته	وزن صدانه	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک	شاخص برداشت
Treatments	Number of pod in plant	100-seed weight (g)	Grain yield (kg.h ⁻¹)	Biological yield (kg.h ⁻¹)	Harvest index (%)
T1	8.25 ef	18.28 ef	1746.5 de	5396.6 e	32.42 bcd
T2	10.5 bc	25.28 a	2751 a	7945.9 a	34.58 abc
T3	9.75 bcd	21.42 c	2239 bc	6077.9 d	36.77 ab
T4	6.25 h	16.24 g	1264.2 fg	4393.6 f	28.36 cd
T5	7.75 fg	18.1 ef	1734.6 de	5280.8 e	32.9 bcd
T6	10.75 b	23.33 b	2300.8 bc	7301.6 b	31.55 bcd
T7	9.25 de	19.48 de	2288.9 bc	6351.7 cd	35.96 ab
T8	6.75 gh	17.03 fg	1382.5 efg	4686.9 f	29.15 cd
T9	6 h	16.17 g	1044.3 g	3792.3 g	27.25 d
T10	9.5 cd	20.53 cd	2108.6 cd	6118.1 d	34.37 abc
T11	12 a	24.24 ab	2676.1 ab	6752.3 c	39.54 a
T12	7.75 fg	18.45 ef	1649 ef	5225.3 e	31.57 bcd

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

Means within each column followed by the same letter are not at 5% level according to least significance difference (LSD) test.

T1: امواج اولتراسونیک (فراصوت) + عدم وجین، T2: امواج اولتراسونیک + وجین (تمام فصل)، T3: امواج اولتراسونیک + علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته (یک لیتر در هکتار)، T4: امواج اولتراسونیک + تریفلورالین با دوز توصیه شده (۲ لیتر در هکتار)، T5: هیدروپرایمینگ + عدم وجین، T6: هیدروپرایمینگ + وجین، T7: هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته، T8: هیدروپرایمینگ + علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه شده، T9: عدم وجین، T10: وجین تمام فصل، T11: علف‌کش تریفلورالین با دوز توصیه شده، T12: علف‌کش تریفلورالین با دوز کاهش یافته.

T1: ultrasonic waves (ultrasound) + no weeding, T2: ultrasonic waves + weeding (all season), T3: ultrasonic waves + reduced herbicide dose (trifluralin 1 L.ha⁻¹), T4: ultrasonic waves + the recommended herbicide dose (2 L.ha⁻¹), T5: hydro-priming + no weeding, T6: hydro-priming + weeding, T7: hydro-priming + reduced herbicide dose, T8: hydro-priming + recommended herbicide dose, T9: no weeding, T10: weeding (all season), T11: recommended herbicide dose, T12: reduced herbicide dose.

چشم‌بلبلی، سبب تسریع بهره‌مندی گیاه نسبت به علف‌های هرز از منابع موجود در ابتدای فصل شده، از سوی دیگر تأثیر علف‌کش تریفلورالین در کاهش سبز شدن بذور علف‌های هرز و تلفیق آن با تکنیک‌های امواج اولتراسونیک و پرایمینگ می‌تواند با کنترل مناسب علف‌های هرز، شرایط را برای افزایش رشد و عملکرد گیاه فراهم نماید.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد بعد از تیمارهای وجین تمام فصل، کمترین تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مربوط به تیمارهای علف‌کش توصیه شده، پرایمینگ + علف‌کش کاهش یافته و اولتراسونیک + علف‌کش کاهش یافته بود که از نظر معنی‌داری در یک گروه آماری قرار داشتند. می‌توان گفت استفاده از امواج اولتراسونیک و پرایمینگ با بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور لوبیا

منابع

1. Abbasdokht, H., Makarian, H., Ahmadisharaf, H., Gholami, A., and Rahimi, M. 2012. The study of integrated weed management (IWM), emphasizing the effect of seed priming on yield and yield components of maize (*Zea mayz* L.). Weed Science Journal 2: 63-76. (In Persian with English Summary).

2. Abbassian, A., Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., and Izadi- Darbandi, E. 2013. Evaluating the effects of imazethapyr and trifluralin dosages on weed population composition and diversity in chickpea. 5th Iranian Weed Science Congress. 562-567. (In Persian with English Summary).
3. Afzal, I., Basra, S.M.A., Ahmad, R., and Iqbal, A. 2002. Effect of different seed vigour enhancement techniques on hybrid maize (*Zea mays* L.). Pakistan Journal Agriculture Science 39: 109-112.
4. Bagheri, A., Zand, A., and Parsa, M. 1998. Beans, the Bottlenecks and Strategies. Jahade Daneshgahi Mashhad Press. 96 pp. (In Persian).
5. Bagheri, A., Mahmudi, A., and Ghezeli, F. 2001. Common Beans, Research for Crop Improvement. Jahade Daneshgahi Mashhad Press. 556 pp. (In Persian).
6. Bayer, D.E., Foy, C.L., Mallory, T.E., and Cutter, E.G. 1967. Morphological and histological effects of trifluralin on root development. American Journal of Botany 54: 945-952.
7. Behran, S.H., Maftoun, M., Sheibany, B., and Hojatti, S.M. 1979. Effects of fertilizer -N and herbicides on the growth and N-content of soybeans and cowpeas. Agronomy Journal 71: 533-538.
8. Caamal-Maldonado, J.A., Jimenez-Osornio, J.J., Torres-Barragan, A., and Anaya, A. L. 2001. The use of allelopathic legume cover and mulch species for weed control in cropping systems. Journal of Agronomy 93: 27-36.
9. Carlson, D. 2013. Sonic bloom organic farming made easy! The best organic fertilizer in the world. [2013-3-6]. http://www.relife.com/sonic_bloom.html
10. Duman, I. 2006. Effect of seed priming with PEG and K₃PO₄ on germination and seedling growth in Lettuce. Pakistan Journal of Biology Science 9(5): 923-928.
11. Ebadi, Sh., Gholipoor, M., and Gholami, A. 2014. The effect of ultrasonic waves and nitroxin biological fertilizer on growth, yield and yield components of cowpea (*Vigna sinensis*). Second National Conference on Sustainable Agricultural Development and Healthy Environment. (In Persian).
12. Elkoca, E., Haliloglu, K., Esitken, A., and Ercisli, S. 2007. Hydro- and osmopriming improve chickpea germination. Soil and Plant Science 57: 193-200.
13. Eskandari, H. 2013. Effects of priming technique on seed germination properties, emergence and field performance of crops: A review. International journal of Agronomy and Plant Production 4(3): 454-458.
14. Farajee, H., and Amiri, Kh. 2010. Comparison of different chemical herbicides to control of broad leaf weeds of common bean in Yasouj, Kohgiluyeh and Boyerahmad province. Iranian Journal of Pulses Research 1(2): 123-130. (In Persian with English Summary).
15. Ghanbari, A., and Taheri Mazandarani, M. 2003. Investigation of planting pattern and weed control on yield and yield components of red bean (*Phaseolus vulgaris*). Journal Seed Plant 19: 37-47.
16. Ghassemi-Golezani, K., Chadordooz-Jeddi, A., Nasrollahzadeh, S., and Moghaddam, M. 2010. Effects of hydro-priming duration on seedling vigour and grain yield of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 38(1): 109-113.
17. Goodarzi, A.B., Fathi, G.H., and Golabi, M. 2006. Evaluation the effect of mixing double-purpose herbicides with surfactant in comparison with single-purpose herbicides on weed control in wheat. In: Proceedings of the 2nd National Weed Science, 29 & 30 January, Mashhad, Iran. 1: 348-353. (In Persian with English Summary).
18. Hansen, W.R., and Shibles, R.M. 1987. Seasonal log of flowering and podding activity of yield-grown soybean. Agronomy Journal 70: 47-50.
19. Harris, D., Rashid, A., Hollington, P.A., Jasi, L., and Riches, C. 2002. Prospects of improving maize yields with on-farm seed priming, p. 180-185. In: N.P. Rajbhandari, J.K. Ransom, K. Adikhari, R.A.F. and E. Palme (Eds.). Sustainable Maize Production Systems for Nepal: Proceedings of a Maize Symposium held, Kathmandu, Nepal, December 3-5, 2001. Narc and Cimmyt.
20. Harvey, R.G. 1973. Relative phytotoxicity of dinitroaniline herbicides. Weed Science 21: 517-520.
21. Hartwig, N.L., and Ammon, H.U. 2002. 50th Anniversary-invited article cover crops and living mulches. Weed Science 50: 688-699.
22. Hassanien, R.H.E., Hou, T.Z., Li, Y.F., and Li, B.M. 2014. Advances in effects of sound waves on plants. Journal of Integrative Agriculture 13(2): 335-348.
23. Johnson, G., and Hoverstad, T.R. 2002. Effect of row spacing and herbicide application timing on weed control and grain yield in corn (*Zea mays* L.). Weed Technology 16: 548-553.
24. Kaur, S., Gupta, A.K., and Kaur, N. 2005. Seed priming increases crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. Journal of Agronomy and Crop Science 191: 81-87.
25. Khan, R.U., and Mumtaz, N.A. 1995. Performance of Treflan, a pre-plant applied herbicide in rapeseed and mustard. Sarhad Journal Agriculture 11(5): 647-655.

26. Koocheki, A., and Banayan Aval, M. 1994. Crops Yield Physiology. Mashhad Jihad Daneshgahi Press. 497 pp. (Translated in Persian).
27. Lipiec, J., Janas, P., and Barabasz, W. 2004. Effect of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms. *International Agrophysics* 18(4): 325-328.
28. Liu, J., Liu, G.S., Qi, D.M., Li, F.F., and Wang, E.H. 2002. Effect of PEG on germination and active oxygen metabolism in wild rye (*Leymus chinensis*) seeds. *Acta Pratacult Sin* 11(1): 59-64.
29. Lund, Z.F., Pearson, R.W., and Buchanan, G.A. 1970. An implanted soil mass technique to study herbicide effects on root growth. *Weed Science* 18: 229-281.
30. Mahzari, S., Baghestani, M.A., Omrani, M., and Rostami, R. 2013. Effect of application of different herbicides on weeds in garlic (*Allium sativum* L.) fields. 5th Iranian Weed Science Congress. Tehran University. P: 662-666. (In Persian with English Summary).
31. Makarian, H. 2002. Planting date and population density influence on competitiveness of corn (*Zea mayz* L.) with redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.). MSc. Thesis, Ferdowsi University of Mashhad. pp. 67-69. (In Persian with English Summary).
32. Maleki-Farahani, S., and Fahiminejad, H. 2011. The effect of seed germination in common caraway (*Carum carvi* L.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) before treatment with ultrasonic sources. Paper Abstracts of the 2nd Conference on Seeds. P: 258-261.
33. Marghaeizadeh, Gh., Gharineh, M.H., Fathi, Gh., Abdali, A.R., and Farbod, M. 2014. Effect of ultrasound waves and magnetic field on germination, growth and yield of *Carum copticum* (L.) (C.B. Clarke) in lab and field conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 30(4): 539-560. (In Persian with English Summary).
34. Miri, H., and Rahimi, Y., 2009. Effects of combined and separate herbicide application on rapeseed and its weeds in southern Iran. *International Journal Agriculture Biol* 11: 257-260.
35. Mirshekari, B., Farahvash, F., Siyami, R., Hosseinzadeh Moghbeli, A., and Sotudeh Khiabani, A. 2013. Ultrasonic irradiation could increase germination and seedling vigor of common yarrow (*Achillea millefolium*), as a medicinal plant. *Life Science Journal* 10(5s): 302-305.
36. Moradbeygi, H., and Khara, J. 2011. The toxicity effects of Trifluralin on some of growth parameters and root colonization in mycorrhizal sunflower plants. *National Conference on Climate Change and its Impact on Agriculture and the Environment*. p: 1323-1328. (In Persian).
37. Moradi Dezfuli, P., Sharifzadeh, F., Bankesaz, A., and Janmohammadi, M. 2009. Effect of priming treatment and sowing date on synchronization of developmental stages and yield of maize inbred lines for hybrid seed production. *Journal of Field Crop Production* 1(4): 79-98. (In Persian with English Summary).
38. Nasiri Dehsorkhi, A., Makarian, H., and Neisi, A. 2015. The effect of seed priming and ultrasonic waves on germination and growth of cowpea (*Vigna sinensis*) under soil use of trifluralin herbicide. *Novel Findings in Bio and Agricultural Sciences (NFBAS2015)*. Shahid Beheshi University, Tehran. P: 1-9. (In Persian).
39. Neisi, A., Gholami, A., and Nasiri Dehsorkhi, A. 2015. The effect of seed pre-treatment by salicylic acid on germination and seedling growth characteristics of maize (*Zea mayz* L.). *Novel Findings in Bio and Agricultural Sciences (NFBAS2015)*. Shahid Beheshi University, Tehran. P: 1-6. (In Persian).
40. Neisi, A. 2015. The effects of tillage management and salicylic acid on agronomic characters and yield corn at mycorrhizal symbiosis condition. MSc. Thesis, University of Shahrood, pp. 64-68. (In Persian with English Summary).
41. Norsworthy, J.K., and Frederick, J.R. 2005. Integrated weed management strategies for maize production on the southeastern coastal of North America. *Crop Protection* 24: 119-126.
42. Pakmehr, A., Rastgoo, M., Shekari, F., Saba, J., Vazayefi, M., and Zangani, A. 2011. Effect of Salicylic acid priming on yield and yield components of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) under water deficit at reproductive stage. *Iranian Journal of Pulses Research* 2(1): 53-64. (In Persian).
43. Rajabian, S. 2013. Effect of ultrasonic waves and Pseudomonas bacteria on growth and yield of corn (*Zea maize* L.). MSc. Thesis, University of Shahrood, pp. 82-93. (In Persian with English Summary).
44. Ramezani, M.K., Sadri, A., and Ghanbari, A.A. 2002. Effect of row spacing and herbicides on weed control of bean. 15th Iranian Plant Protection Congress. p. 171. (In Persian).
45. Sabet Zangeneh, H., Alebrahim, M.T., Motie, B., and Mehdizadeh, M. 2014. Efficacy of pre-emergence herbicides and integrate them with hand weeding on weed control, yield and yield components of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Research in Crop Ecosystems* 1(4): 95-103. (In Persian with English Summary).

46. Sadeghipour, O., and Ghaffari Khaligh, H. 2005. Effect of weeding and different herbicides on weed control in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The 1st Iranian Pulses Symposium. 552-554. (In Persian).
47. Shakh, M.A., Ahmad, S., and Malin, N.A. 2006. Integrated weed management and its effect on the seed cotton yield in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) crops. Weed Science 12: 111-117.
48. Talbert, R.E. 1965. Effects of trifluralin on soybean root development. Proc. 18th Southern Weed Control Conference. p. 652.
49. Tewari, A.N., Tiwari, S.N., Rathi, J.P.S., Verama, R.N., and Tripathi, A.K. 2001. Crop weed competition studies in chickpea having *Asphodelus tenuifolius*-dominated weed community under rainfed condition. Indian Journal Weed Science 33:198-199.
50. Woolley, B.L., Michaels, T.E., Hall, M.R., and Swanton, C.J. 1993. The critical period of weed control in white bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Weed Science 41: 180-184.
51. Yadavi, A.R., Agha Alikhani, M., Ghalavand, A., and Zand, E. 2006. Effect of plant density and planting arrangement on grain yield and growth indices of corn under redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) competition. Agriculture Research 6(3): 31-46. (In Persian with English Summary).
52. Yaldagard, M., Mortazavi, S.A., and Tabatabaie, F. 2008. Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barley seed: optimization of method by the taguchi approach. Journal of the Institute of Brewing 114(1): 14-21.
53. Zand, E., Baghestani, M.A., Bitarafan, M., and Shimi, P. 2007. Guide of Herbicides In Iran & Management of Weed Resistance to Heabicides. Jahade Daneshgahi Mashhad Publishers. 66 pp. (In Persian).

The effect of ultrasonic waves and seed priming in conjunction with weed management on yield and yield components of cowpea (*Vigna sinensis* L.)

Nasiri Dehsorkhi¹, A., Makarian^{2*}, H., Gholipour², M. & Abbasdokht², H.

1. MSc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University of Technology

2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University of Technology

Received: 27 February 2016

Accepted: 2 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.53957

Introduction

The mechanism of seed priming is to initiate the repairing system for membrane and the metabolic preparation for germination through controlling water absorption rate of seed. As a result, the germination capability and resistance to unfavorable conditions of seed can be promoted obviously. Ultrasound is defined as acoustic waves at frequencies greater than 20 kHz that can be an effective method of improve germination and growth characteristics of plants. Mirshekari et al. (2013) found that treating common narrow seeds with ultrasonic irradiation increases its germination and primary growth. There is no knowledge about the effect of ultrasonic waves and seed priming on plant competition with weeds. Thus, the objective of this research was to study the effect of ultrasonic waves and seed priming on yield and yield components of cowpea (*Vigna sinensis* L.) in competition with weeds.

Materials and Methods

Experiment was conducted at the research field of Shahrood University of Technology (latitude of 36° 25' N and longitude of 54° 57' E with an elevation of 1345 m) as randomized complete block design with four replications in during the growing season of 2013-2014. Treatments included; ultrasonic waves (ultrasound) + no weeding, ultrasonic waves + weeding (all season), ultrasonic waves + reduced herbicide dose (trifluralin 1 L.ha⁻¹), ultrasonic waves + the recommended herbicide dose (2 L.ha⁻¹), hydro-priming + no weeding, hydro-priming + weeding, hydro-priming + reduced herbicide dose, hydro-priming + recommended herbicide dose, no weeding, weeding (all season), recommended herbicide dose, and reduced herbicide dose. In hydro-priming treatment, seeds were treated with water before sowing for 7 hours. Also for ultrasonic treatment, the seeds before sonication (for 6 minutes) treated with water for 7 hour. Trifluralin used in recommended dose (2 L.ha⁻¹) and reduced herbicide dose (1 L.ha⁻¹), therefore immediate mixed with soil before planting. Statistical analyses of data were performed with statistical software MSTATC. Significant differences between means refer to the probability level of 0.05 by LSD test.

Results and Discussion

The results showed that all treatments decreased significantly biomass and density of weeds in comparison to control (no weeding). No significant difference was observed in density and shoot biomass of weeds between the application of hydro-priming + trifluralin 1 L.ha⁻¹ and ultrasonic waves + trifluralin 1 L.ha⁻¹ with trifluralin 2 L.ha⁻¹ treatment. Hydro-priming + reduced herbicide dose and ultrasonic waves + reduced herbicide dose treatments decreased total weed biomass by 61 and 46.5% in comparison to using

*Corresponding Author: h.makarian@yahoo.com, Mobile: 09153598404

reduced herbicide dose treatment. In this regard Abbasdokht *et al* (2012) reported that density and shoot biomass of weeds was similar between reduced herbicide dose (Nicosulfuron 40 g.a.i. ha⁻¹) + hydro priming and recommended herbicide dose (Nicosulfuron 80 g.a.i. ha⁻¹). During priming, seeds are partially hydrated so that pre-germinative metabolic activities proceed, while radicle protrusion is prevented, then are dried back to the original moisture level (McDonald, 2000). Ghassemi-Golezani *et al*, (2008) suggested hydropriming as a simple and effective method for improving seed germination and seedling emergence of lentil in the field. Also the results indicated that the combined use of ultrasonic waves + weeding (all season) treatment increased grain and biological yield by 62 and 52.3 percent in comparison to control (no weeding) treatment respectively. Rajabian (2013) reported that seed pretreatment of corn by ultrasonic waves increased the grain and biologic yield in comparison to control significantly. The results indicated that no significant difference was observed in grain yield between the application of hydro-priming + trifluralin 1 L.ha⁻¹ and ultrasonic waves + trifluralin 1 L.ha⁻¹ in comparison to trifluralin 2 L.ha⁻¹ and weeding (all season) treatments. Whereas, sowing pretreated seeds by ultrasonic waves and hydro-priming in soil containing recommended trifluralin dose decreased the investigated traits in comparison to application of pre-treatments alone and recommended herbicide dose. In this regard, Moradbeygi and Khara (2011) observed a significant reduction due to increased trifluralin concentrations on root and shoot length and dry weight of sunflower plants. Based on Yaldagard *et al*, (2008), one of the possible explanations could be that the mechanical effects of ultra-sonication produced numerous small holes in the coating and after steeping in the water a significant rise in seedling moisture resulted. It has been suggested that the sonication process accelerates the imbibition of water through the pericarp. Sonication may create or enlarge fissures in the protective coating surrounding the seed and pericarp. The superiority of sonication may be due to a higher holding capacity and higher porosity, which increase oxygen availability. Generally it seems that pre-treatment of cowpea seeds by hydro-priming and ultrasonic waves can increase competitiveness of bean plant with weeds through increasing crop growth rate. The results showed that proper combination of trifluralin herbicide along with seed priming could be used to control the weeds in the bean and obtain seed yield comparable with weed-free conditions.

Conclusion

Both hydro-priming and ultrasonic waves had the effects on accelerating germination and improving competitive ability of bean plant. Hydro- or ultrasonic waves priming showed better plant growth than that without priming treatment when exposed to competition conditions. Pretreated seeds in combination to low herbicide dose had the best effects on the weed suppression and increasing crop yield. Based on our results, priming and sonication of seeds in combination with reduced dose of herbicide can be an effective method of weeds control and increase crop yield and also reduce herbicide consumption.

Key words: Integrated weed management, Primary establishment, Trifluralin

بررسی اثر قطع آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی

و کیفی لوبیا قرمز رقم D81083

تبسم قدیمیان^۱، حمید مدنی^{۲*} و مسعود گماریان^۳

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۳. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۱۵

چکیده

به‌منظور بررسی واکنش لوبیا قرمز رقم D81083 به قطع آبیاری و اسید هیومیک، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی اراک اجرا شد. سطوح آبیاری به‌عنوان عامل اصلی در سه سطح شامل آبیاری کامل، قطع آبیاری در مرحله گلدهی و در مرحله غلاف‌دهی و محلول‌پاشی با اسید هیومیک به‌عنوان عامل فرعی در سه سطح شامل عدم مصرف اسید هیومیک، مصرف ۱/۵ و سه لیتر در هکتار اسید هیومیک در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که قطع آبیاری بر کلیه صفات مورد بررسی تأثیر معنی‌داری داشت. در اکثر صفات مهم اندازه‌گیری شده مانند عملکرد دانه، محلول‌پاشی اسید هیومیک هم در شرایط آبیاری کامل و هم در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و غلاف‌دهی در مقایسه با تیمار شاهد موجب افزایش معنی‌دار شد. در مورد عملکرد دانه و وزن صددانه از نظر مصرف اسید هیومیک بین مقادیر ۱/۵ و سه لیتر در هکتار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین میزان پروتئین، آهن و روی دانه و همچنین مقدار کلروفیل در تیمار قطع آبیاری در زمان گلدهی به‌دست آمد. از بین اجزای عملکرد تعداد دانه در غلاف بیشترین همبستگی را با عملکرد دانه داشت. بر اساس نتایج به‌دست آمده اثر قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی مشابه اثر تیمار شاهد بود و از طرفی به‌نظر می‌رسد در بهبود خصوصیات زراعی، کیفی و فیزیولوژیکی لوبیا اسید هیومیک می‌تواند مؤثر باشد.

کلمات کلیدی: اسید هیومیک، پروتئین، تنش کم‌آبیاری، عناصر میکرو، لوبیا

مقدمه

افزایش سریع جمعیت در کشورهای در حال توسعه پیامدهای ناگواری را به‌دنبال داشته است که از آن جمله می‌توان به کمبود غذا و سوء تغذیه اشاره نمود که در این میان کمبود پروتئین در جیره غذایی بیشترین سهم را به خود اختصاص داده است (Koocheki & Banayan, 1994). حبوبات با داشتن مقادیر بالای پروتئین پس از غلات دومین منبع غذایی بشر محسوب می‌گردند (Dorri et al., 2010). در بین حبوبات، لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) به‌عنوان تأمین کننده پروتئین‌های گیاهی در اکثر کشورها به‌ویژه کشورهای در حال توسعه دارای مصرف بالایی می‌باشد (Marjani, 1995). بر اساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی ۹۲-

۱۳۹۱ میزان تولید لوبیا در کشور ۱۹۰ هزار تن برآورد شده و عملکرد لوبیا در اراضی آبی ۱۶۷۰ کیلوگرم در هکتار و در اراضی دیم ۱۳۵۳ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. در مناطق خشک و نیمه خشک جهان به‌علت بهره‌برداری بیش از حد از منابع آب بحران کمبود آب پیوسته ادامه دارد و با توجه به شرایط اقلیمی کشور که جزء مناطق گرم و خشک محسوب می‌گردد (Koocheki & Banayan, 1994) و با توجه به حساسیت گیاه لوبیا به خشکی (Dorri et al., 2008) نیاز به تحقیق در این زمینه بیش از پیش روشن می‌گردد. افزایش تنش خشکی، قابلیت دسترسی به آب را کاهش داده و اثرات نامطلوبی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه خواهد داشت (Kaya et al., 2006). کمبود آب در بعضی مراحل رشد و نمو لوبیا برای دوره ای کوتاه می‌تواند عملکرد و کیفیت آن را به‌شدت کاهش دهد، به‌طوری‌که تنش خشکی در مرحله گرده‌افشانی و لقاح، تعداد غلاف‌ها و دانه‌ها را به‌علت پسابیدگی دانه‌های گرده کاهش داده

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۲۳۶۰۶۵۱۸
h.madani@iau-arak.ac.ir

برگی، عناصر ریزمغذی را به گیاه عرضه می‌کند و یا از طریق فعالیت‌های شبه‌هورمونی راندمان جذب را افزایش می‌دهد (Yelderim, 2007). نتایج پژوهش بر روی گندم نشان داده است که مصرف اسید هیومیک سبب افزایش رشد ریشه و خصوصیات رویشی و زایشی می‌گردد (Katkat et al., 2009). با توجه به آنچه ذکر گردید هدف از این مطالعه بررسی اثر اعمال تنش آبی و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید هیومیک بر خصوصیات زراعی، فیزیولوژیکی و کیفی لوبیا قرمز رقم D81083 بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این مطالعه از بذر لوبیا رقم D81083 استفاده شد. منشأ این رقم کشور کلمبیا بوده و در کلاس تجاری Morado با فرم بوته ایستاده و رشد محدود (تیپ ۱) قرار می‌گیرد که دارای متوسط ارتفاع ۳۰ تا ۳۵ سانتی‌متر، دوره رشدونمو ۸۰ روز، وزن صدانه ۴۶ گرم با متوسط عملکرد ۲۵۰۰ کیلوگرم بر هکتار، پروتئین آن ۲۲ درصد و نسبت به آفت کنه دو نقطه‌ای نیمه حساس و نسبت به ویروس BCMV و CMV در شرایط مزرعه حساس می‌باشد. بذور این رقم از بازارپسندی بسیار خوبی برخوردار است. در شرایط معمولی دوره رشد آن حداقل ۱۵ روز زودتر از شاهد گلی است. این رقم مناسب مناطقی است که در آن جا کمبود آب وجود دارد (Dorri et al 2010).

شرایط محل آزمایش

این آزمایش در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی اراک با عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و پنج دقیقه و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۴۲ دقیقه و ارتفاع ۱۷۸۷ متر از سطح دریا انجام گرفت. همچنین جهت تعیین میزان عناصر موجود در خاک از مزرعه موردنظر، آزمون خاک انجام و نتایج آن در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

و پرمردگی کلاله مانع رشد لوله‌های گرده می‌شود (Baghaei, 2005). در مطالعه‌ای گزارش شده است که تنش خشکی عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا را هم در مرحله گلدهی و هم در مرحله پُرسدن دانه کاهش می‌دهد (Boutra & Sanders, 2001). این مسئله از طریق افت زیست‌توده و یا تغییر در توزیع ماده خشک به اندام‌های مختلف گیاه باعث کاهش عملکرد کل می‌شود (Nilson, 1998). زمان وقوع تنش خشکی نقش قابل‌توجهی را همراه با شدت آن ایفا می‌کند، به‌طوری‌که در لوبیا و سویا مرحله پُرسدن دانه، در گندم مراحل ساقه‌دهی و شروع گلدهی و در نخود مراحل گلدهی و پُرسدن دانه و در مورد برنج، مرحله گلدهی از مراحل حساس این گیاهان به تنش شدید کم‌آبی محسوب می‌شوند (Sing, 1995). در تحقیقی گزارش شده است که تنش کمبود آب عملکرد لوبیا را کاهش می‌دهد و کاهش عملکرد به زمان و شدت تنش و ژنوتیپ لوبیا بستگی دارد (Frahm et al., 2004). ترکیبات زیادی در جهت به‌حداقل‌رساندن اثرات سوء تنش کم‌آبی در گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گرفته که یکی از این ترکیبات انواع مواد هیومیکی است. اسید هیومیک از منابع مختلف نظیر هوموس، خاک و مانند آن استخراج می‌شود و با کلات‌کردن عناصر ضروری سبب افزایش جذب عناصر شده و باروری خاک و تولید را به‌خصوص در شرایط نامساعد و تنش حفظ کرده و ارتقا می‌بخشد (Sebahattin & Necdet, 2005).

اسید هیومیک با بهبود تولید قند، پروتئین و ویتامین در گیاه و تأثیر مثبتی که بر جنبه‌های مختلف فتوسنتز دارد، در افزایش عملکرد و کیفیت محصول نقش دارد (Sharif et al., 2002). در پژوهش انجام‌شده توسط Mora et al, (2010) مشاهده شد که اسید هیومیک رشد اندام‌های هوایی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که این امر با افزایش فعالیت آنزیم H⁺-ATPase همراه بود. چنانچه اسید هیومیک به‌صورت پاشش روی برگ‌ها مورد استفاده قرار بگیرد، از طریق جذب

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 1. Soil physical and chemical characteristics of experimental field

اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (dS.m ⁻¹)	آهک T.N.V. (%)	نیتروژن N (%)	فسفر P (%)	پتاسیم K (%)	آهن Fe	روی Zn	منگنز Mn	مس Cu	بر B	بافت خاک Soil Texture
P.P.M.											
7.7	1.2	11.5	0.15	25.6	400	2.98	4.16	6.72	1.04	1.26	لوم Loam

قطع آبیاری در سه سطح آبیاری کامل (شاهد)، قطع آبیاری در مرحله گلدهی و قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی و عامل کرت فرعی تیمار کاربرد اسید هیومیک در سه سطح عدم مصرف

طرح آماری استفاده شده

این آزمایش به‌صورت اسپلیت‌پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل کرت اصلی

مقدار هدایت الکتریکی قرائت شده کسر و به عنوان شاخص پایداری غشاء سلول‌های برگ در نظر گرفته شد. همچنین میزان کلروفیل (Arnon, 1967) نیز در پایان مرحله گلدهی اندازه‌گیری گردید. در زمان رسیدگی کامل بذرها درصد پروتئین دانه با دستگاه کج‌دال و میزان عناصر آهن و روی دانه توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Emami, 1996).

تجزیه واریانس و محاسبه ضرایب همبستگی در این تحقیق به کمک نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال آماری پنج درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

عملکرد بیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس این صفت نشان داد اثر قطع آبیاری و کاربرد اسید هیومیک به ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های عملکرد بیولوژیک لوبیا قمرز نشان داد که بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک به ترتیب به میزان ۱۰۰۹۹ کیلوگرم در هکتار در تیمار آبیاری کامل و ۹۷۸۸ کیلوگرم در هکتار در تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی به دست آمد. همچنین کمترین میزان عملکرد بیولوژیک در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی به میزان ۶۷۰۸ کیلوگرم در هکتار حاصل شد. تیمار اثر ساده کاربرد اسید هیومیک بر این صفت در صورت مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار بالاترین عملکرد و تیمار عدم مصرف و مصرف سه لیتر در هکتار هر دو پایین‌ترین عملکرد بیولوژیک را داشتند.

به نظر می‌رسد کمبود آب از طریق افت میزان زیست‌توده باعث کاهش عملکرد محصول نهایی می‌شود و در نتیجه میزان تجمع ماده خشک در گیاه کاهش می‌یابد (Nilson, 1998). مطالعه نتایج سایر بررسی‌ها نیز همین موارد را نشان داد، به طوری که با تأخیر در آبیاری لوبیا سفید عملکرد دانه آن کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند (Habibi, 2011). کاهش زیست‌توده گیاه نیز بر اثر افزایش تنش خشکی در مراحل مختلف رشد گیاه لوبیا، گزارش شده است (Shekari, 2001). در آزمایشی نشان داده شد که اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید هیومیک و اثر متقابل آن بر وزن صددانه و عملکرد بیولوژیک معنی‌دار بوده و کاربرد اسید هیومیک اثرات منفی تنش خشکی آخر فصل را کاهش داد (Haghparast et al., 2011).

اسید هیومیک (شاهد)، و کاربرد میزان ۱/۵ و سه لیتر در هکتار اسید هیومیک در هکتار به شیوه محلول‌پاشی و در دو نوبت به صورت محلول‌پاشی قبل از گلدهی و قبل از غلاف‌دهی انجام گرفت.

فاصله بین کرت‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بلوک‌ها یک متر در نظر گرفته شد. کاشت در ۲۰ خردادماه ۱۳۹۳ انجام شد. آبیاری به روش قطره‌ای و با استفاده از شیلنگ‌های پلی‌اتیلنی که هر کدام شیر کنترل جداگانه داشت، صورت گرفت.

اعمال تیمار قطع آبیاری بر اساس مرحله رشدی در دو مرحله شامل ۵۰ درصد گلدهی و ۵۰ درصد غلاف‌دهی و کاربرد اسید هیومیک ۱۲ درصد (با نام تجاری هیومکس محصول شرکت J.H. BIOTECH آمریکا که حاوی اسید هیومیک ۱۲ درصد، اسید فولویک سه درصد و اکسید پتاسیم سه درصد بود) با غلظت ۱/۵ و سه لیتر در هکتار و به صورت محلول‌پاشی یکبار قبل از گلدهی و تکرار آن قبل از غلاف‌دهی انجام شد. محلول‌پاشی به هنگام غروب آفتاب و توسط پمپ دستی صورت گرفت.

در انتهای فصل رشد برای تعیین عملکرد دانه پس از رسیدگی فیزیولوژیک بوته‌ها، از هر واحد آزمایشی کلیه بوته‌های موجود در دو مترمربع از دو ردیف میانی هر کرت با در نظر گرفتن حاشیه‌ها برداشت شدند. سپس عملکرد بیولوژیک در مرحله رسیدگی نهایی و عملکرد دانه توزین شد. برای اندازه‌گیری شاخص برداشت از رابطه زیر استفاده گردید.

$$100 \times \text{عملکرد بیولوژیک} / \text{عملکرد اقتصادی (عملکرد دانه)} = \text{شاخص برداشت}$$

به منظور اندازه‌گیری صفات مرتبط با عملکرد دانه، از هر کرت ۱۰ بوته به صورت تصادفی انتخاب و متوسط تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن صددانه محاسبه شد. به منظور محاسبه وزن صددانه، ۱۰ نمونه صدتایی شمارش و وزن هر نمونه با ترازوی دقیق تعیین شد و سپس میانگین آن‌ها محاسبه گردید.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک مانند درصد محتوای رطوبت نسبی برگ با استفاده از روش (Ritchie et al., 1990) در پایان مرحله گلدهی و هدایت الکتریکی برگ با استفاده از روش (Krizek et al., 1998) صورت گرفت. در این روش در مرحله پایان گلدهی نمونه‌های برگ با شرایط سنی مشابه از هر کرت برداشت به آزمایشگاه منتقل و از آن‌ها تعداد ۲۰ دیسک دایره‌ای شکل به صورت تصادفی توسط پانچ تهیه شد. سپس دیسک‌های برگی را در حجم ۲۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده در دمای پنج درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از گذشت ۲۴ ساعت میزان هدایت الکتریکی محلول با دستگاه اندازه‌گیری شد. در نهایت، میزان هدایت الکتریکی آب مقطر از

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر قطع آبیاری و محلول پاشی اسید هیومیک بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیاقرمز
Table 2. Analyses of variance for the effect of irrigation hult and humic acid foliar application on yield and yield components on red bean

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
		عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد دانه Seed yield	شاخص برداشت Harvest index	وزن صدانه 100 seeds weight	تعداد دانه در غلاف Seed number per pod	تعداد غلاف در بوته Number of pod per plant
بلوک Replication	2	1366196 ^{ns}	30764 ^{ns}	21.40 ^{ns}	12.68 ^{ns}	0.17 ^{ns}	1.69 ^{ns}
قطع آبیاری Irrigation hult	2	3163340	12424114**	394.46*	59.32*	0.63**	8.76 ^{ns}
خطای اصلی Main Error	4	1781484	70727	27.33	4.74	0.024	1.41
اسید هیومیک Humic Acid	2	20032696**	1039895**	501.84**	82.97**	0.52*	14.96**
قطع آبیاری × اسید هیومیک Irrigation hult × Humic Acid	4	21138169**	218798**	367.75	16.19 ^{ns}	0.12 ^{ns}	76.04**
خطای فرعی Sub Error	12	1811345	17178	26.49	10.31	0.103	2.64
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		15.18	5.35	17.95	10.51	12.24	6.84

^{ns}, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

^{ns}, * and **: not significant and significant at 5 and 1% levels of probability, respectively

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تیمار قطع آبیاری و کاربرد اسید هیومیک در سطح یک درصد بر عملکرد دانه تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین نیز مشخص شد میزان عملکرد دانه در تیمار آبیاری کامل به میزان ۳۴۷۷ کیلوگرم در هکتار و در تیمار قطع آبیاری در گلدهی کمترین عملکرد دانه به میزان ۱۱۶۷ کیلوگرم در هکتار بوده است (جدول ۳). سایر بررسی‌ها نشان داد مهم‌ترین نوع تنش آبی ایجاد شده در لوبیا در فصل گلدهی و در اثر کاهش آب می‌باشد (Parsa & Bagheri, 2008). در تحقیقی که بر روی صفات تحمل به خشکی در لوبیا صورت گرفته است، بیشترین کاهش عملکرد دانه در مرحله گلدهی و پس از آن در مرحله غلاف‌دهی مشاهده شد (Shekari, 2011). همچنین گزارش شده است که تنش رطوبتی، کاهش معنی‌داری بر عملکرد دانه لوبیا به وجود آورده است که مقدار این کاهش به طول مدت تنش، شدت تنش و نوع ژنوتیپ می‌تواند ارتباط داشته باشد (Farajzadeh Memari & Rashidi, 2011). بر اساس آزمایش‌های انجام شده روی ژنوتیپ‌های لوبیا مشاهده شده است که تنش خشکی می‌تواند عملکرد دانه را تا ۸۰ درصد نسبت به شرایط طبیعی کاهش دهد (Szilagiy, 2003).

شاخص برداشت

نتایج تجزیه واریانس برای شاخص برداشت محصول نشان داد که اثر قطع آبیاری و اثر اسید هیومیک بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین درصد شاخص برداشت

است که تنش خشکی باعث کاهش شاخص برداشت در لوبیا می‌شود (German & Teran, 2006). نتایج مقایسه میانگین‌های این صفت نشان داد که با مصرف سه لیتر در هکتار اسید هیومیک می‌توان بالاترین شاخص برداشت (۳۷ درصد) را به دست آورد. در این بررسی عدم مصرف اسید هیومیک و یا مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار آن تفاوت معنی‌داری را روی شاخص برداشت نداشت و هر دو در یک گروه با پایین‌ترین شاخص برداشت قرار گرفتند که این نتایج با مشاهدات Kaya et al, (2005) هماهنگ می‌باشد.

لوبیا قرمز بدون تفاوت معنی‌دار در تیمار آبیاری کامل و تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی به ترتیب با ۳۵/۴۴ درصد و ۲۹/۰۷ درصد و کمترین مقدار آن در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی به میزان ۲۲/۲ درصد بود (جدول ۳). سایر بررسی‌ها نیز نشان می‌دهد کاهش شاخص برداشت در شرایط اعمال تنش خشکی چه در مرحله رویشی و چه در مرحله زایشی می‌تواند به دلیل کاهش سطح فتوسنتز و کاهش انتقال مجدد مواد فتوسنتزی که در مرحله پرشدن دانه‌ها صورت می‌گیرد، باشد (Khoshvaghti, 2006).

نتیجه مشابهی در گیاه سویا توسط Masoumi et al, (2011) به دست آمد. همچنین در تحقیقی نشان داده شده

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر قطع آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا قرمز رقم D81083
Table 3. Mean comparisons for the effect of irrigation hult and humic acid foliar application on yield and yield components in red bean

تیمار Treatment	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) Biological yield (Kg.ha ⁻¹)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Seed yield (Kg.ha ⁻¹)	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	وزن صدانه (گرم) 100 seeds weight (g)	تعداد دانه در غلاف Seed number per pod	تعداد غلاف در بوته Number of pod per plant	میزان پروتئین دانه Protein content of seed (%)
قطع آبیاری Irrigation hult (I)							
آبیاری کامل Control (I ₁)	10099 a	3476.8 a	35.45 a	30.91 a	2.81 a	13.47 ab	23.21 b
قطع آب در مرحله گلدهی Irrigation hult at flowering stage (I ₂)	6707 b	1167.4 c	22.21 b	27.84 b	2.32 b	13.82 a	24.02 a
قطع آب در مرحله غلاف‌دهی Irrigation hult at pod stage (I ₃)	9787 a	2698.1 b	29.07 a	32.94 a	2.76 a	11.96 b	21.38 c
اسید هیومیک Humic acid (H)							
عدم مصرف Control (H ₁)	8504 b	2058 b	22.98 b	27.12b	2.90 b	12.34 b	27.01 a
مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار 1.5 lit/ha (H ₂)	10503 a	2599 a	26.45 b	32.85a	2.54 b	14.57 a	18.89 c
مصرف ۳ لیتر در هکتار 3 lit/ha (H ₃)	7585 b	2685 a	37.29 a	31.72a	3.10a	12.34 b	22.71 b
قطع آبیاری × اسید هیومیک Irrigation hult × Humic (I*H) acid							
I1H1	10862 ab	3139 c	29.41 c	25.18 c	2.44 bc	15.20 b	27.05 b
I1H2	8686 bc	3898 a	45.19 a	33.71 ab	2.66 bc	14.20 b	19.23 h
I1H3	10748 ab	3393 b	31.75 bc	33.84 ab	3.33 a	11.03 c	23.33 e
I2H1	4834 d	674 h	14.88 ed	25.20 c	2.28 bc	6.56 e	29.13 a
I2H2	11351 a	1254 g	11.15 e	28.60 bc	2.20 c	17.40 a	22.23 f
I2H3	3935 d	1574 f	24.65 c	29.73 bc	2.50 bc	17.50 a	20.70 g
I3H1	9817 ac	2361 e	40.59 ab	30.98 abc	2.62 bc	15.26 b	24.83 c
I3H2	11472 a	2643 d	23.01 cd	36.25 a	2.76 abc	12.13 c	15.20 i
I3H3	8072 c	3090 c	39.55 ab	31.60 ab	2.88 ab	8.50d	24.10 d

میانگین‌هایی که در هر ستون و برای هر اثر دارای حروف مشترک می‌باشند، در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

Mean with similar letters are not significantly different at the 0.05 probability level according to Duncan test.

وزن صددانه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تأثیر قطع آبیاری و اسید هیومیک بر این صفت معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر وزن دانه‌ها نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین وزن صددانه در تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی و آبیاری کامل به‌میزان ۳۲/۹۴ و ۳۰/۹۱ گرم و کمترین آن در تیمار قطع آب در مرحله گلدی به‌میزان ۲۷/۸۴ گرم بوده است که این مسئله نشان می‌دهد، مرحله حساس گیاه لوبیا به قطع آبیاری، همان مرحله گلدی می‌باشد و ممکن است در مرحله غلاف‌دهی نیاز گیاه به آب به‌تدریج کاهش یافته و کمتر باشد. هرچند کمبود آب در مراحل رویشی و زایشی به‌علت افزایش رقابت برای مواد غذایی باعث کاهش وزن صددانه می‌شود (Emadi et al., 2012).

به‌نظر می‌رسد علت این موضوع می‌تواند ناشی از کاهش طول دوره رشد رویشی و زایشی در اثر اعمال تنش رطوبتی باشد که موجب کوتاه‌شدن طول دوره مؤثر پُرسدن دانه و کاهش ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی به دانه‌ها شده و باعث تقلیل وزن صددانه در لوبیا گردیده است (Mahlouji et al., 2001). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که مصرف ۱/۵ و ۳ لیتر اسید هیومیک در هکتار بالاترین وزن صددانه را به‌ترتیب با ۳۲/۸۵ و ۳۱/۷۲ گرم تولید کرده است (جدول ۳). نتیجه سایر بررسی‌ها نیز نشان داد که محلول‌پاشی با اسید هیومیک سبب افزایش وزن صددانه شده است (Sabzevari et al., 2008). اسید هیومیک از طریق بهبود فعالیت‌های آنزیمی در محیط ریشه ذرت، کارایی جذب آب را افزایش داده که از این طریق می‌تواند در رشد و نمو بهتر گیاه مؤثر و در نتیجه عملکرد دانه نیز تحت تأثیر آن قرار دهد (Canellas et al., 2002).

تعداد دانه در غلاف

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار قطع آبیاری و اسید هیومیک بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین اثر متقابل قطع آبیاری و اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری بر تعداد دانه در غلاف نداشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها برای این صفت نشان داد بیشترین میانگین تعداد دانه در غلاف در تیمار آبیاری کامل ۲/۸ و در تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی به‌میزان ۲/۷۶ دانه در غلاف بوده است. کمترین تعداد دانه در غلاف نیز در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدی با متوسط ۲/۳۲ دانه در غلاف بود (جدول ۳). نتایج آزمایش Nami et al. (2011) نیز بر روی گیاه لوبیا نشان داد که تنش کمبود آب باعث کاهش تعداد دانه در غلاف در واحد سطح گردید. در گیاه لوبیا افزایش تعداد دانه در غلاف دارای محدودیت است و

بیشتر به طول غلاف بستگی دارد که خود تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است، ولی بر اساس گزارش‌های موجود، شرایط محیطی مناسب در مرحله گلدی در افزایش تعداد دانه در غلاف بی تأثیر نیست (Mendham, 1981). همچنین نتایج آزمایش (Monuze et al., 2006) نیز از کاهش تعداد دانه لوبیا بر اثر تنش خشکی حکایت دارد. نتایج این بررسی نشان داد بیشترین تعداد دانه در غلاف به‌میزان ۳/۱ دانه در تیمار کاربرد سه لیتر در هکتار و کمترین تعداد دانه در غلاف به‌میزان ۲/۵ دانه در صورت مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار اسید هیومیک به‌دست آمد. همچنین بین مصرف ۱/۵ لیتر و عدم مصرف اسید هیومیک در تعداد دانه در غلاف تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. به‌نظر می‌رسد کاربرد اسید هیومیک ۱۲ درصد در مرحله گلدی موجب افزایش معنی‌دار تعداد دانه در غلاف لوبیاقرمز می‌گردد. در سایر بررسی‌ها همچنین نتایج کاربرد اسید هیومیک در زراعت گندم نشان داد تعداد دانه و تعداد سنبله در بوته تحت تأثیر اسید هیومیک قرار داشتند (Ulykan, 2008). بر اساس جدول ۶، ضریب همبستگی میان عملکرد دانه و تعداد دانه در غلاف به‌میزان ($r=0.68^*$) مثبت و معنی‌دار بود.

تعداد غلاف در بوته

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تیمار قطع آبیاری و اسید هیومیک و اثر متقابل آن معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین تعداد غلاف در بوته در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدی (۱۳/۸۲) و بدون تفاوت آماری با تیمار شاهد (۱۳/۴۷) بوده است. تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی کمترین تعداد غلاف در بوته (۱۱/۹۶) را تولید کرد (جدول ۳). نتایج سایر بررسی‌ها نشان داد که یکی از دلایل کاهش تعداد غلاف در بوته در چنین شرایطی ممکن است کاهش طول دوره رشد گیاه باشد که طی آن تولید مواد فتوسنتزی نیز کاهش می‌یابد (Nielsen, 1998). نتایج بررسی بر روی لوبیاچیتی نشان داده است که تنش رطوبتی در مراحل مختلف رشد این گیاه موجب کاهش تعداد غلاف در بوته گردیده است (Bayat, 2008). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های این صفت نشان داد که با مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار اسید هیومیک بیشترین تعداد غلاف در بوته و در صورت عدم مصرف اسید هیومیک و یا مصرف سه لیتر در هکتار آن کمترین تعداد غلاف در بوته‌های لوبیاقرمز تولید گردیده است (جدول ۳). سایر گزارش‌ها در مورد لوبیا بیان می‌دارد که محلول‌پاشی با اسید هیومیک نسبت به مصرف خاکی آن باعث افزایش بیشتر رشد گیاه، تعداد غلاف، وزن غلاف و میزان پروتئین و کلروفیل می‌گردد (E-Bassiony et al., 2010).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر قطع آبیاری و محلول پاشی اسید هیومیک بر خصوصیات گیاهی و کیفی لوبیا قرمز
Table 4. Analyses of variance for the effect irrigation hult and humic acid foliar application on plant characteristics and quality in red bean

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی Df	میانگین مربعات (MS)							
		کلروفیل a Chl. a	کلروفیل b Chl. b	کلروفیل a+b Chl. a+b	محتوای رطوبت نسبی برگ R.W.C.	آهن دانه Iron of seed	روی دانه Zinc of seed	هدایت الکتریکی برگ EC	پروتئین دانه Protein of Seed
بلوک Replication	2	0.49*	0.01ns	0.61ns	66.13ns	0.34ns	3.51ns	520.99ns	7.29**
قطع آبیاری Irrigation hult	2	0.64*	3.67**	7.20**	161.49*	24.51**	166.64**	64212.14	16.50**
خطای اصلی Main Error	4	0.04	0.12	0.29	58.14	1.12	6.34	1081.66	0.02
اسید هیومیک Humic Acid	2	0.11**	1.70**	7.41**	36.944ns	206.25**	123.81**	52178.66**	148.39**
قطع آبیاری × اسید هیومیک Irrigation hult × Humic Acid	4	2.66*	1.75**	3.15**	36.27ns	43.92**	157.15**	60907.62**	22.14**
خطای فرعی Sub Error	12	0.16	0.15	0.36	36.21	25.96	16.13	477.98	0.02
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)		14.86	21.85	13.45	11.11	5.36	3.44	5.82	2.45

ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: not significant and significant at 5 and 1% levels of probability, respectively

میزان پروتئین دانه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در این پژوهش اثر تیمار قطع آبیاری و اثر اسید هیومیک و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر پروتئین دانه معنی دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها برای میزان پروتئین دانه نشان داد بیشترین درصد پروتئین دانه (۲۴/۰۲ درصد) در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کمترین آن مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی (۲۱/۳۸) بود. همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین درصد پروتئین در صورت عدم مصرف اسید هیومیک (۲۷/۰۱ درصد) و کمترین آن در صورت کاربرد ۱/۵ لیتر در هکتار اسید هیومیک بود (جدول ۵). در این بررسی بین پروتئین و وزن صدانه همبستگی منفی و معنی دار ($r = -0.81^{**}$) دیده شد (جدول ۶). به نظر می‌رسد که در این بررسی تجمع کربوهیدرات‌ها به افزایش وزن دانه لوبیا کمک کرده است که افزایش میزان پروتئین ناشی از افزایش وزن دانه‌ها می‌باشد.

سایر بررسی‌ها نشان می‌دهد تنش آب در مزرعه لوبیا منجر به ایجاد اختلال در فرآیند فتوسنتز و سنتز پروتئین‌ها شده و در نتیجه باعث جابه‌جایی متابولیت‌ها به سمت دانه می‌گردد (Thalooth et al., 2006). علت افزایش پروتئین لوبیا در شرایط تنش آبی نیز سنتز پروتئین‌های جدید در این شرایط

گزارش گردیده است (Sadeghipour & Aghaiee, 2012). همچنین بررسی اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های کمی کیفی سویا نشان داده است که با افزایش تنش، درصد پروتئین دانه افزایش می‌یابد (Pourmousavi, 2006). سایر بررسی‌ها تأکید دارد هرچقدر دوره پُرسیدن دانه به واسطه دوره‌های کمبود آب کوتاه‌تر شود، دوره ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها نیز کوتاه شده و اثر کمتری بر ذخیره‌سازی پروتئین می‌گذارد. به همین دلیل با افزایش شدت تنش خشکی، درصد کربوهیدرات دانه کاهش و پروتئین آن افزایش می‌یابد (Ghobadi, 2010). در بررسی درصد پروتئین در ژنوتیپ‌های لوبیا قرمز در طی تنش خشکی گزارش شده است که خشکی باعث افزایش درصد پروتئین و برخی صفات کیفی دانه لوبیا شد (Mohamadi et al., 2010).

میزان آهن دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمار قطع آبیاری، اسید هیومیک و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر محتوای آهن دانه تأثیر معنی داری داشت (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌های این صفت نشان داد بیشترین میزان آهن دانه (۲۹/۳۷) قسمت در میلیون) در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی به دست آمد. میزان آهن دانه در تیمار شاهد و قطع آبیاری در مرحله

هدایت الکتریکی الکترولیت سلولی برگ

نتایج تجزیه واریانس میزان هدایت الکتریکی الکترولیت سلولی بافت‌های برگ لوبیا در مرحله پایان گلدهی نشان داد قطع آبیاری، اسید هیومیک و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر این صفت تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین‌های این صفت نشان داد بالاترین میزان هدایت الکتریکی الکترولیت سلولی برگ‌ها در صورت قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی بوده است (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل قطع آبیاری و مصرف اسید هیومیک نشان داد ترکیب تیماری مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار اسید هیومیک در شرایط قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی بیشترین میزان هدایت الکتریکی الکترولیت سلولی را داشت (جدول ۵). در مطالعه *Borji et al., (2007)* که بر روی ۱۰ رقم لوبیاسفید و قرمز انجام شد مشخص گردید بین هدایت الکتریکی و سرعت جذب آب در بافت‌های برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. تغذیه متعادل گیاه و بهره‌مندی از محرک اسید هیومیک شاید از دلایل پایداری غشای سلول‌های برگ در این آزمایش در تیمارهای کاربرد هیومیک اسید با مقادیر بیشتر بوده است.

میزان کلروفیل برگ

میزان کلروفیل در گیاهان یکی از عوامل مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (*Jiayang & Hang, 2001*). با افزایش شدت تنش، غلظت کلروفیل *a* و *b* و کل افزایش می‌یابد. بررسی‌ها روی گیاه گلرنگ نشان داده است که در شرایط تنش ملایم خشکی، شاخص کلروفیل افزایش و با افزایش شدت تنش خشکی میزان کلروفیل کاهش می‌یابد (*Kafi & Rostami, 2007*). بر اساس نتایج تجزیه واریانس تیمار قطع آبیاری و همچنین اثرات متقابل قطع آبیاری و اسید هیومیک بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین مشخص کرد بالاترین میزان کلروفیل *a*، *b* و *a+b* در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی بوده است (جدول ۵). همچنین اثر اسید هیومیک در در صورت مصرف سه لیتر در هکتار باعث افزایش میزان کلروفیل به بیشترین مقدار گردید.

محتوای رطوبت نسبی برگ

به‌طور کلی محتوای نسبی آب برگ معرف خوبی از وضعیت گیاه است و به‌عنوان شاخص مناسب در انتخاب برای مقاومت به خشکی مدنظر قرار می‌گیرد. کمبود آب با افت محتوای رطوبت نسبی و پتانسیل آب برگ زمینه کاهش فتوسنتز در واحد سطح برگ را فراهم می‌سازد (*Ghobadi, 2010*).

غلاف‌دهی که هر دو در یک گروه و در پایین‌ترین رتبه قرار گرفتند، بسیار ناچیز بود (جدول ۵). هرچند با مطالعه بر روی گیاه ذرت گزارش شده است که با افزایش شدت تنش خشکی جذب آهن، مس و روی افزایش می‌یابد (*Martins et al., 2003*)، ولی پاسخ گیاهان مختلف به‌میزان تجمع آهن در دانه‌های گیاهان مختلف می‌تواند متفاوت باشد. همچنین در این بررسی اثر ساده اسید هیومیک در تیمار مصرف سه لیتر در هکتار در بالاترین رتبه (۳۲/۱۳ قسمت در میلیون) و در تیمار مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار اسید هیومیک در کمترین رتبه (۲۲/۵۷ قسمت در میلیون) قرار گرفت. نتایج سایر بررسی‌ها نشان داد کاربرد اسید هیومیک می‌تواند کلروز گیاهان را نیز بهبود بخشد، چراکه اسید هیومیک می‌تواند آهن را به فرم قابل جذب نگهداری کند که این پدیده به‌خصوص در خاک‌های قلیایی و آهکی مانند خاک‌های اکثر نقاط کشور که معمولاً دچار فقر آهن هستند، نکته قابل‌توجهی است (*Rahi et al., 2011*).

میزان روی دانه

تجزیه داده‌ها نشان داد تیمار قطع آبیاری و اسید هیومیک و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر میزان روی دانه تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین مشخص کرد بیشترین میزان روی دانه (۳۸/۶۷ قسمت در میلیون) در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی بود و سایر تیمارها در یک گروه و با کمترین مقدار قرار داشتند. همچنین در تیمار عدم مصرف اسید هیومیک میزان عنصر روی در دانه‌های لوبیا قرمز در بیشترین مقدار (۳۷/۵۱ قسمت در میلیون) و در تیمار مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار در کمترین مقدار قرار گرفت (جدول ۵).

آزمایشی که توسط *Abvali Parizi (2014)* بر روی ذرت انجام شده نشان داده است که حداکثر وزن خشک اندام هوایی، در تیمار استفاده از سولفات روی و عدم مصرف اسید هیومیک بود. نتایج تحقیق *Ayin (2012)* نیز بر روی کنگد نشان داد تنش خشکی باعث انباشت یون روی در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود. همچنین در تحقیقی بر روی کلزا مشاهده شد که تنش کم‌آبی باعث افزایش غلظت روی در گیاه شد (*Nasri et al., 2008*). در این تحقیق، بین میزان روی و عملکرد دانه و تعداد غلاف در بوته همبستگی منفی معنی‌دار دیده شد (جدول ۶). به‌نظر می‌رسد به موازات افزایش توان تولید دانه میزان تجمع عناصر ریزمغذی در دانه کاهش می‌یابد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر قطع آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر خصوصیات گیاهی و کیفی لوبیاقرمز

Table 5. Mean comparisons for the effect of hult irrigation and humic acid foliar application on plant characteristics and quality in red bean

تیمار Treatment	کلروفیل a Chl. a	کلروفیل b Chl. b	کلروفیل a+b Chl. a+b	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد) RWC (%)	آهن دانه Iron in seed (ppm)	روی دانه Zinc in seed (ppm)	هدایت الکتریکی برگ (دسی زیمنس بر متر) EC (dS.m ⁻¹)
قطع آبیاری Irrigation hult (I)							
آبیاری کامل Control (I ₁)	2.61 b	1.41 b	4.02 b	52.36 a	26.52 b	31.85 b	312.51 b
قطع آب در مرحله گلدهی Irrigation hult at flowering stage (I ₂)	2.97 a	2.53 a	5.49 a	52.05 a	29.37 a	38.67 a	342.59 b
قطع آب در مرحله غلافدهی Irrigation hult at pod stage (I ₃)	2.45 b	1.43 b	3.87 b	50.96 b	26.50 b	30.72 b	471.51 a
اسید هیومیک Humic acid (H)							
عدم مصرف Control (H ₁)	2.17 b	1.42 b	3.58 c	56.17 a	27.68 b	37.51 a	343.92 b
مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار 1.5 lit ha ⁻¹ (H ₂)	2.73 a	1.68 b	4.40 b	54.07 a	22.57 c	30.09 c	462.39 a
مصرف ۳ لیتر در هکتار 3 lit ha ⁻¹ (H ₃)	3.13 a	2.27 a	5.40 a	52.12 a	32.13 a	33.64 b	320.29 c
قطع آبیاری × اسید هیومیک Irrigation hult × Humic acid (I×H)							
I1H1	2.04 b	1.15 c	3.19 d	52.69 abc	22.70 ed	28.18 d	318.75 cd
I1H2	2.33 b	1.60 bc	3.93 cd	53.26 abc	24.50 d	28.98 d	355.46 bc
I1H3	3.46 a	1.49 bc	4.94 bc	51.12 abc	32.35 b	38.38 b	263.32 e
I2H1	2.09 b	1.47 bc	3.56 d	56.59 abc	31.75 b	50.61 a	367.50 b
I2H2	3.30 a	2.17 b	5.46 b	46.92 c	20.75 e	32.44 c	292.19 de
I2H3	3.50 a	3.95 a	7.45 a	49.66 bc	35.60 a	32.97 c	368.08 b
I3H1	2.36 b	1.65 bc	4.00 cd	59.24 ab	28.60 c	33.74 c	345.52 bc
I3H2	2.55 b	1.28 c	3.82 cd	62.03 a	22.45 ed	28.86 d	739.53 a
I3H3	2.43 b	1.37 c	3.80 cd	55.59 abc	28.45 c	29.55 d	329.48 bcd

میانگین‌هایی که در هر ستون و برای هر اثر دارای حروف مشترک می‌باشند، در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

Mean with similar letters are not significantly different at the 0.05 probability level according to Duncan test.

باعث کاهش ۶۷ درصدی عملکرد دانه و اعمال تنش قطع آبیاری در مرحله زایشی گیاه سبب کاهش ۲۳ درصدی عملکرد دانه لوبیاقرمز شد. بنابراین عملکرد گیاه به شدت تحت تأثیر تأمین رطوبت مورد نیاز در مرحله رویشی است. همچنین در صورت مصرف ۱/۵ لیتر در هکتار اسید هیومیک ۲۶ درصد به افزایش عملکرد دانه نسبت به تیمار شاهد کمک کرده است که این میزان می‌تواند برای مصرف اسید هیومیک به میزان سه لیتر در هکتار معادل ۳۰ درصد باشد. از آنجاکه مصرف ۱/۵ و ۳ لیتر در هکتار اسید هیومیک تفاوت معنی‌داری از نظر میزان عملکرد دانه نسبت به شاهد ایجاد نکرده است، توصیه می‌شود حداقل از میزان کمتر اسید هیومیک (۱/۵ لیتر در هکتار) در زراعت لوبیاقرمز خصوصاً در شرایط کمبود آب استفاده گردد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار قطع آبیاری معنی‌دار و تیمار اسید هیومیک و اثر متقابل قطع آبیاری و اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت (جدول ۴). با مطالعه ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا نشان داده شده است که کلیه ژنوتیپ‌ها از RWC کمتری در شرایط تنش برخوردار بودند (Ghanbari *et al.*, 2012). در مطالعه اثر تنش خشکی بر روی عدس کاهش محتوای نسبی آب برگ تأیید شده است (Salehpour *et al.*, 2009).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، اعمال قطع آبیاری که منجر به بروز تنش خشکی در مرحله رویشی گیاه لوبیاقرمز گردید،

جدول ۶- همبستگی ساده بین صفات اندازه‌گیری شده

Table 6. Simple correlation coefficient between measured traits

صفات Traits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1-Biomass yield	1													
2-Seed yield	0.46	1												
3-Harvest index	-0.26	0.68*	1											
4-100 Seed weight	0.35	0.55	0.37	1										
5-No. Seed per pod	0.26	0.68*	0.48	0.69*	1									
6-No. Pod per plant	0.34	0.07	0.04	-0.01	-0.31	1								
7-Chlorophyll a	-0.027	-0.15	0.04	0.27	0.25	0.38	1							
8- Chlorophyll b	-0.59	-0.42	0.22	-0.09	-0.25	0.43	0.66*	1						
9- Chlorophyll a+b	-0.39	-0.34	0.16	0.06	-0.05	0.45	0.87**	0.94**	1					
10-RWC	-0.39	-0.39	0.07	-0.13	-0.25	0.28	0.35	0.71*	0.62	1				
11-Porotein	-0.27	-0.31	-0.27	-0.81**	-0.26	-0.36	-0.34	-0.2	-0.28	0.24	1			
12-Iron	-0.75*	-0.22	0.31	-0.07	0.29	-0.41	0.33	0.5	0.47	0.27	0.28	1		
13-Zinc	-0.49	-0.61*	-0.46	-0.41	-0.14	-0.6*	-0.22	-0.006	-0.01	-0.15	0.57	0.54	1	
14-EC	-0.27	-0.29	-0.26	-0.64*	-0.14	-0.61*	-0.36	-0.3	-0.36	0.049	0.71	0.19	0.49	1

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

* and ** show significant differences at 0.05 and 0.01 probability level respectively.

منابع

1. Abvali Parizi, M., Moafpourian, G.H., and Yasrebi, G. 2014. Effect of humic acid and zinc on the leaf surface and dry matter weight of corn. Second National Conference on Sustainable Agriculture and Natural Resources. October 23, 2014. Tehran University. p. 4. (In Persian).
2. Arancon, N.Q. 2003. Effects of vermicomposts on growth and marketable fruits of field-grown tomatoes, peppers and strawberries. The 7th International Symposium on Earthworm Ecology Cardiff Wales. June 6, 2002. p. 49.
3. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.
4. Ayin, A. 2012. Effect of eliminating of irrigation at different growth stage on seed yield and some agronomic traits of two sesame genotypes. Journal of Seed Plants 29(2): 40-48.
5. Ayuo, M., Hernandez, T., Garcia, C., and Pascual, J.A. 1996. Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. Bioresource Technology 57: 251-257.
6. Baghaei, N. 2005. Effects of water stress at different stages of growth and yield and yield components bean. Master's Thesis, Islamic Azad University of Karaj. (In Persian with English Summary).
7. Bayat, A. 2008. Effects of water stress on yield and yield components of new kind of bean in Khomain. MSc. Thesis. University of BuAlisina, Hamedan. (In Persian with English Summary).
8. Borji, M., Ghorbani, M., and Sarlak, M. 2007. Some seed traits and their relationship to seed germination, emergence rate electrical conductivity in common bean. Asian Journal of Plant Sciences 6(5): 781-787.
9. Boutra, T., and Sanders, E.E. 2001. Influence of water stress on grain yield and vegetative growth of two cultivars of bean. Journal of Agronomy and Crop Science 187: 251-257.
10. Canellas, L.P. Facanha, A.Q., Olivares, F.L., and Facanha, A.R. 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H-ATPase activity in maize roots. Plant Physiology 130: 1951-1957.
11. Dorri, H., Bayat, A., Sepehri, A., and Ahmadvand, G. 2010. Effects of water stress on yield and yield components of pinto bean genotypes. Iranian Journal of Crop Science. 12(1): 42-54. (In Persian).
12. El-Bassiony, A.M., Fawzy, Z.F., Abd EL-baky, M.M.H., and Mohmud, M.R. 2010. Response of bean plants to mineral fertilizers and humic acid application. Research Journal of Agricultural and Biological Sciences 6(2): 169-175.

13. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
14. Emadi, N., Jahanbin, Sh., and Baluchi, H. 2012. Effect of drought stress and plant density on yield, yield components and some morphological traits beans in Yasouj. The 12th Iranian Crop Science Congress. September 14, 2012. Islamic Azad University. Karaj. p. 1-5. (In Persian).
15. Emami, A. 1996. Methods of plant analysis. *Journal of Research Organ Education and Agricultural Extension*. 9(2): 11-28.
16. Farajzadeh Memari Tabrizi, N., and Rashidi, V. 2011. Drought effects on morphological traits of bean genotypes. *Annals of Biological Research* 2(5): 95-99.
17. Forghani, V., and Gavanmard, A. 2005. Effect of Humic acid and folic and various additives on the number of different soils. The 9th Soil Science Congress, September 2, 2005. Soil Conservation and Watershed Management Research Center. Tehran. p. 2. (In Persian).
18. Frahm, M.A., and Rosas, J.C. 2004. Breeding beans for resistance to terminal drought in the lowland tropics. *Euphytica* 136(2): 223-232.
19. German, C., and Teran, H. 2006. Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop Science* 46: 2111-2120.
20. Ghanbari, A., Shakiba, M., Abasian, A., and Mousavi, H. 2012. Evaluation of sensitivity and drought resistance index in bean genotypes. The 5th Pulse Crop Congress, March 7, 2012. Tehran University. p. 1-4.
21. Ghobadi, R. 2010. Evaluate the effects of various levels of drought stress and nitrogen fertilizer on leaf relative water content, percentage of carbohydrate, protein, fat and hectoliter seed of corn (S.C. 704). Thesis, University of Boroujerd. Iran. (In Persian with English Summary).
22. Habibi, G. 2011. Influence of drought on yield and yield component in white bean. *World Academy of Science. Engineering and Technology* 55: 244-253.
23. Haghparast, M., Malekifarhani S., Sinki, G., and Zareei, Gh. 2011. Effect of reducing the negative drought stress in chickpea using humic acid and seaweed extracted. *Journal Crop Science* 2(1): 59-71.
24. Jahani, M., Sohrabi, R., and Doaei, F. 2012. The effects of irrigation, the use of super absorbent polymer in soil and foliar application of humic acid on the yield of red beans in Mashhad condition. The 12th National Conference on Water and Reduce Evaporation. August 5, 2012. Shad Bahonar University. Kerman. p. 1-6. (In Persian).
25. Jiang, Y., and Huang, N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidase. *Crop Science* 41: 436-442.
26. Kafi, M., and Rostami, M. 2007. The effect drought stress on the growth 3 kinds of genotypes on yield and yield components, oil percentage on safflower in irrigation with saline water. *Iranian Journal of Field Crops Research* 9(3): 525-534.
27. Karpinski, S.H., Gabrys, A., and Mateo, B. 2003. Light perception in plant disease defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 6(4): 390-396.
28. Katkat, A.V., Celik, H., Turan, M., and Asic, B. 2009. Effect of soil and foliar application of humic acid substances on dry weight and mineral nutrient uptake of wheat under calcareous soil conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3: 1266-1273.
29. Kaya, M. 2005. Effect of pre-sowing seed treatment with zinc and foliar spray of humic acid s of yield of common bean. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 6: 875-878.
30. Khoshvaghti, H. 2006. Effect of water limitation on growth rate, grain filling and yield of three pinto bean cultivars. MSc. Thesis. Tabriz University. Iran. (In Persian with English Summary).
31. Koocheki, A., and Banayan Aval, M. 1994. Grain Legume Cropping. Mashhad Jahad Daneshgahi Publisher.
32. Krizek, D.T., Britz, S.J., and Mirecki, R.M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red fire lettuce. *Physiologia plantarum* 103(1): 1-7.
33. Mahlouji, M., Mousavizadeh, S.F., and Karimi, H. 2001. Effect of drought stress and sowing date on pinto bean grain yield and yield components. *Journal of Agricultural and Natural Resources* 4(1): 57-67.
34. Marjani, A. 1995. Evaluation of phenotypic and genotypic traits beans and their correlation with performance through path analysis studies. Master's Thesis. Islamic Azad University.
35. Martins, A.L., Batagha, O.C., Camargo, O.A., and Contavell, H. 2003. Corn yield and uptake of Cu, Fe, Mn and Zn from sewage sludge-amend soil with and without liming. *Revista-Basilica-Deciencia* 27: 563-574.

36. Masoumi, H., Darvish, F., Daneshian, J., Normohamadi, G., and Habibi, D. 2011. Effect of water deficit stress on seed yield and antioxidants content in soybean cultivars. *Agricultural Research journal* 6(5): 1209-1218.
37. Mendham, N.J., Shipway, P.A., and Scot, R.K. 1981. The effect of delayed and weather on growth, development and yield of winter oil seed (*Brassica napus* L.). *Agricultural Science Journal* 96: 389-416.
38. Mohamadi, A., Bihamta, M., and Dorri, H. 2010. Traits affecting cooking and protein content at 15 genotypes red beans in normal irrigation and drought stress. *Iranian Journal of Pulses Research* 1(2): 143-152.
39. Monuze-Perea, C.G., Teran, Allen, R.G., Wright, J.I., Westermann, D.T., and Singh, S.P. 2006. Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop Science* 46: 2111-2120.
40. Mora, V., Bacaicoa, E., Zamarreno, A.M., Aguirre, E., Garnica, M., and Fuentes, M. 2010. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokines, polyamines and mineral nutrients. *Plant Physiology* 167: 633-642.
41. Nami, F., Shakiba, M., Mohamadi, A., and Ghanepour, S. 2011. Yield and yield components bean under effect of water shortages process. The 4th Iranian Pulse Crop Symposium, Febrivary 6-8, 2012. Arak. p. 49. (In Persian).
42. Nasri, M., KHalatbari, M., Zahedi, H., Paknezhad, F., and Tohidi Moghadam, H.R. 2008. Evaluation of micro and macro elements in drought stress condition in cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Amrican Journal of Agricultural and Biollogical Science* 3: 579-583.
43. Nilsen, D.C., and Nelson, N.O. 1998. Black been sensitivity to water stress at various growth stage. *Crop Science* 38: 422-427.
44. Parsa, M.A., and Bagheri, R. 2008. *Pulses*. Jahad Daneshgahi (Mashhad) Publishers.
45. Pourmousavi, M. 2006. Effect of manure on growth and physiological characteristics of soybean crops in drought condition. MSc. Thesis, University of Zabol. (In Persian with English Summary).
46. Rahi, A., Davodifard, M., Azizi, F., and Habibi, D. 2011. The effect of different doses of humic acid and study the response *Dactylis glomerata* Cultivar. *Journan of Crop Science* 28: 15-28.
47. Ritchie, S.W., Nyngen, H.I., and Halady, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
48. Sabzevari, S., Khazaei, H.R., and Kafi, M. 2008. Effect of humic acid on root and shoot growth of two wheat cultivars. *Journal of Water and Soil* 23: 287-94 (In Persian).
49. Sadeghipour, O., and Aghaei, P. 2012. Response of common bean to exogenous application of salicylic acid under water stress condition. *Advances in Environmental Biology* 6(3): 1160-1168.
50. Salehpoure, M., Ebadi, A., Izadi, M., and Jammati, S. 2009. Evaluation of water stress and nitrogen fertilizer effects on relative water content membrane stability index chlorophyll and some other traits of lentis under hydroponics condition. *Research Journal of Environmental Science* 3: 103-109.
51. SAS Institute. 1999. *SAS Start Users Giulde*. Version 8.0. SAS Institute, Cary, NC.
52. Sebahattin, A., and Necdet, C. 2005. Effects of different levels and application times of humic acid on root and leafyield and yield components of forage Turnip (*Brassica rapa* L.). *Agronomy Journal* 4: 130-133.
53. Sharif, M., Khattak, R.A., and Sarir, M.S. 2002. Effect of different levels of lignite cool derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33: 3567-3580.
54. Shekari, F. 2001. Evaluation of common bean characters to drought stress tolerance. Final Report of Research Project of Institute of Agricultural Physiology nd Biotechnology of Zanzan University.
55. Sing, S.P. 1995. Selection for water stress tolerance in interracial in common bean. *Crop Sciences* 35: 118-124.
56. Szilagyi, L. 2003. Influence of drought on seed yield components in common bean. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, Special Issue* 320-330.
57. Thalooth, A.T., Tawfic, M.M., and Magda Mohamad, H. 2006. Comparative study on the effect of foliar application of zinc, potassium and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of mung bean plants grown under water stress condition. *World Journal of Agricultural Sciences* 2: 37-46.
58. Ulykan, H. 2008. Effect of soil applied humic acid at differ rent sowing times on some yield components in wheat hybrids. *International Journal of Botany* 4: 164-175.
59. Yelderim, E. 2007. Foliar and soil fertilization of humic acid effect productivity and quality of tomato. *Acta Agriculture Scandinavia Section B-soil. Plant Science* 57: 182-186.

Effect of irrigation hult and humic acid foliar application on agronomic, qualitative and physiological characteristics in red bean cultivar D₈₁₀₈₃

Ghadimian, T¹., Madani, H.^{1*} & Gomarian, M.¹

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Arak Branch. Islamic Azad University, Arak, Iran

Received: 19 December 2015

Accepted: 15 March 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.53136

Introduction

Rapid population growth in developing countries have resulted to adverse effect such as food shortages and malnutrition. Lack of protein in the diet is accounted for the largest portion. Pulses with high amounts of protein are the second largest source of food after cereals. Among pulses, beans as a supplier of plant proteins in many countries, particularly developing countries has high consumption. Area under cultivation of bean is 240000 hectares with an average yield of 1500 kg per hectare in Iran. In arid and semi-arid area due to excessive exploitation of water resources, the water shortage is constantly evolving and according to the climatic conditions that are considered hot and dry, and sensitivity of bean to drought further research in this field is clear. Humic acid is extracted from different sources, such as humus and, soil and using chelating essential elements improve and increase fertility and productivity of soil, especially in conditions of stress. As we mentioned before, purpose of this study was evaluating effect of water stress and use of humic acid on agronomic, physiological and quality traits.

Materials & Methods

This experiment was performed at agricultural Research Station in Arak, Iran in 2014. The experiment was performed in split plot arangement based on randomized complete block design with three replications. The main factor was irrigation hold at 3 levels: complete irrigation (control), irrigation hold at flowering stage and irrigation hold at pod stage and sub factor was humic acid foliar application in three levels of non humic acid application (control), 1.5 and 3 liters per hectare humic acid 12% at pre flower satage and pod stges applications. In this study the red bean seed was from D₈₁₀₈₃ cultivar. In this study, biological yield, grain yield, number of seeds per pod, number of pods per plant, harvest index, seed weight, chlorophyll a, b and a+b content, RWC, iron, zinc and protein contents in grains and also, leaf electrolyte electrical conductivity were measured. Analysis of data was done with SAS software and comparisons of means were performed with Duncans multiple range test at 0.05 statistically significant level.

Results & Discussion

Mean comparison of irrigation treatment indicated that the highest seed yield was in complete irrigation and hold irrigation at pod stage and lowest rate was for hold irrigation at flowering stage. In this experiment, use of humic acid in normal conditions and in conditions of hold irrigation at flowering and pod stage could be increase the yield. The highest harvest index was in complete irrigation and hold irrigation at pod stage. The results showed that the highest 100 seed weight was from control and hold irrigation at pod stage treatment and the least weight was from hold irrigation at flowering stage which shows the sensitive stage for bean is cut-irrigation at flowering stage and maybe the need for water is low in pod stage. Among yield

*Corresponding Author: h.madani@iau-arak.ac.ir, Mobile: 09123606518

components, seeds per pod had significant correlation with yield. The highest number of pods per plant during irrigation hold was at flowering stage and control treatment and irrigation hold at pod stage had the lowest rate of pods per plant. Most of seed protein obtained from hold irrigation at flowering stage and the lowest amount of it was in hold irrigation at pod stage. The effect of hold irrigation and the effect of humic acid application was as well as the interaction bouth. There were significant differences on levels of iron and zinc in seeds. The highest amount of chlorophyll a, b and a+b were in hold irrigation at flowering stage. The effect of 3.5 liter per hectare foliar application of humic acid could be increase total chlorophyll. Hold Irrigation treatment also had a significant effect on the leaf relative water content in pod stage.

Conclusion

The results showed that the irrigation hold had significant effect on all studied traits. Generally, the highest and lowest yield was related to complete irrigation treatment but in some cases the hold irrigation at flowering stage was the same result. The effect of hold irrigation at pod stage was the same as complete irrigation treatment which this point can be used in saving water. Also, Spraying with different amounts of humic acid showed that the humic acid improved the agronomic characteristics and quality of the beans in range of 1.5 litter per ha. Therefore, Using of humic acid may improve agronomic, qualitative and physiological characteristics of red bean.

Key words: Deficit irrigation stress, Humic acid, Micro elements, Protein, Red Bean

ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های لوبیاجیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) مناسب جهت کشت در بوم‌نظام‌های کم‌نهاد با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنش

عادل غدیری^۱، پرویز رضوانی مقدم^{۲*}، عبدالرضا باقری^۲، رضا قربانی^۲ و علیرضا بهشتی^۴

۱- دانشجوی دکتری اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی و عضو گروه پژوهشی بقولات پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۰

چکیده

به‌منظور ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های لوبیای مناسب جهت کشت در مدیریت‌های زراعی کم‌نهاد، آزمایشی در مزرعه ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای خمین در سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. تعداد ۵۵۹ ژنوتیپ لوبیاجیتی موجود در کلکسیون لوبیای این ایستگاه به‌همراه سه شاهد در قالب طرح آگمنت در دو شرایط مدیریت زراعی معمول و مدیریت زراعی کم‌نهاد کشت شدند. در طول فصل رشدونمو، مراقبت‌های زراعی لازم بر اساس شرایط هر یک از مدیریت‌های زراعی صورت پذیرفت و در پایان عملکرد ژنوتیپ‌ها اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، مدیریت زراعی کم‌نهاد به‌طور متوسط منجر به کاهش عملکرد به‌میزان ۴۵/۵ درصد شد. برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل به شرایط کم‌نهاد، میانگین حساسی (MP)، میانگین هندسی (GMP)، تحمل به تنش (STI)، حساسیت به تنش (SSI) و تحمل (TOL) محاسبه شد. بر اساس تجزیه کلاستر انجام‌شده، ژنوتیپ‌های لوبیا در پنج خوشه قرار گرفتند که ژنوتیپ‌های خوشه ۲ از نظر شاخص‌های GMP و STI به‌ترتیب ۷۶/۸ و ۱۸۱/۲ درصد بیشتر از میانگین کل و از نظر شاخص‌های SSI و TOL به‌ترتیب ۶۰ و ۴۸/۵ درصد کمتر از میانگین کل بودند و لذا به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر برای کشت در شرایط کم‌نهاد، انتخاب گردیدند. بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر روی شاخص‌های ذکرشده و عملکرد دانه در دو شرایط معمول و کم‌نهاد، با استفاده از نمودار بای‌پلات و مشاهده وضعیت قرارگرفتن ژنوتیپ‌ها در بای‌پلات، ۱۰ ژنوتیپ Ks-21184، Ks-92021، Ks-21119، Ks-21280، Ks-21461، Ks-21362، Ks-92198، Ks-21671، Ks-21673 و Ks-21236 که STI و GMP بالا و SSI پایین داشتند، به‌عنوان ژنوتیپ‌های مناسب جهت کشت در مدیریت‌های زراعی کم‌نهاد شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: شاخص تحمل به تنش، عملکرد دانه، لوبیاجیتی

مقدمه

کشاورزی ملل متحد، سطح زیرکشت لوبیا در جهان معادل ۲۹/۲ میلیون هکتار با تولیدی برابر ۲۳/۱ میلیون تن می‌باشد. در ایران نیز سطح زیرکشت لوبیا معادل ۹۸ هزار هکتار و تولید آن برابر ۲۵۳ هزار تن، گزارش گردیده است (Anonymous, 2013).

طی چند دهه اخیر، ضرورت استفاده از ارقام پُرمحصول، نیاز به مصرف نهاده‌های مختلف از جمله کودهای شیمیایی جهت تقویت خاک و نیز سموم شیمیایی جهت مبارزه با آفات را افزایش داده است، به‌طوری‌که امروزه کلیه جنبه‌های تولیدات کشاورزی به‌طور فزاینده‌ای به تزریق نهاده‌های کمکی وابسته

حبوبات و از جمله لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) علاوه‌بر ارزش‌های غذایی و تولید پروتئین، دارای توانایی تثبیت زیستی نیتروژن بوده و به‌منظور تقویت و حفظ حاصلخیزی خاک برای کشت در نظام‌های زراعی پایدار، مطلوب هستند و لذا از نظر اکولوژیکی و زیست‌محیطی نیز با کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی، در حفظ اکوسیستم خاک نقش ارزشمندی دارند. بر طبق آخرین آمار منتشرشده توسط سازمان غذا و

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۵۷۹۶، rezvani@um.ac.ir

شخص حساسیت به تنش (SSI) را پیشنهاد کردند. مقدار کمتر SSI نشان‌دهنده تغییرات کم عملکرد یک ژنوتیپ در شرایط مدیریت زراعی کم‌نهاد نسبت به شرایط مدیریت زراعی معمول و در نتیجه پایداری بیشتر آن ژنوتیپ است. (1992) Fernandez شاخص تحمل به تنش (STI) را معرفی کرد. ژنوتیپ‌های پایدارتر بر اساس این شاخص دارای مقادیر بالاتر STI هستند.

Brummer *et al*, (2011) معتقدند که علم اصلاح نباتات کلاسیک طی سال‌های ۱۹۵۰ به بعد همزمان با نهاده‌های زراعی ارزان‌قیمت مانند کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و آب، با هدف افزایش عملکرد محصولات شکل گرفته است؛ اما در حال حاضر متخصصان این رشته به خصوص علاقه‌مندان به کاهش اثرات منفی کشاورزی بر طبیعت و بهبود محیط زیست، در تعامل با بوم‌شناسان، در صدد معرفی ارقام جدید با کارایی بالای مصرف نهاده‌ها می‌باشند.

Dambroth & El bassam (1983) مفهوم اصلاح‌نباتات برای شرایط کم‌نهاد را معادل انتخاب ارقام با کارایی مصرف نهاده بالا معرفی نموده و بیان می‌دارد که هدف در این روش اصلاحی، رسیدن به ارقام با حداکثر عملکرد ممکن نبوده، بلکه صرف‌نظر از میزان نهاده‌های ورودی، هدف سازگاری با طیف وسیعی از شرایط موجود در زیستگاه می‌باشد.

Ghadiry *et al*, (2014) بیان نمودند که در بین نظام‌های زراعی مختلف در لوبیا، بیشترین مقدار کارایی مصرف نیتروژن از سیستم زراعی کم‌نهاد با میانگین ۴۳/۰۸ کیلوگرم دانه به‌ازای هر کیلوگرم نیتروژن مصرفی حاصل گردید. همچنین، بالاترین کارایی مصرف آب در لوبیا را نیز به سیستم زراعی کم‌نهاد با میانگین ۷۳/۰ کیلوگرم دانه به‌ازای هر متر مکعب آب مصرفی نسبت دادند. آن‌ها بیان نمودند که شناسایی ارقام لوبیای سازگار با شرایط کم‌نهاد می‌تواند علاوه بر افزایش کارایی مصرف نهاده‌ها، یک استراتژی مناسب جهت حرکت به سمت پایداری تولید در این محصول محسوب گردد.

Schneider *et al*, (2006) در ارزیابی ارقام اصلاح‌شده جدید گندم در کنار ارقام قدیمی تحت شرایط کم‌نهاد بیان نمودند که عملکرد ارقام اصلاح‌شده جدید در شرایط کم‌نهاد بیشتر بوده؛ اما کیفیت نانواپی و پخت این ارقام در شرایط مذکور نسبت به ارقام قدیمی کمتر بود. (1998) El bassam کارایی مصرف مواد غذایی در گیاهان را حاصل دو جزء کارایی جذب مواد غذایی و کارایی تبدیل مواد غذایی می‌داند. ایشان در مطالعه بر روی ارقام و ژنوتیپ‌های وحشی و اصلاح‌شده گندم، آن‌هایی را که دارای کارایی مصرف بالاتری از نیتروژن، فسفر و پتاس بوده‌اند را ارقام مناسب جهت سیستم‌های زراعی کم‌نهاد

شده است. بی‌شک تأمین این نهاده‌ها به‌طور نامحدود امکان‌پذیر نخواهد بود و ادامه تأمین آن‌ها در سطح فعلی نیز میسر نیست. لذا در نظام‌های تولیدی غذا در آینده، افزایش کارایی مصرف نهاده‌ها و الگوهای کشت متکی بر روش‌های زراعی کم‌نهاد، اساس رهیافت‌های تولیدات اکولوژیک خواهد بود (Koocheki & Hoseini, 1995).

نظام‌های کشاورزی کم‌نهاد^۱ به‌عنوان روشی برای بهینه‌سازی مصرف نهاده‌های اکولوژیک و به‌حداقل‌رساندن مصرف نهاده‌هایی همچون کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها در هر زمان و هر مکان ممکن به‌منظور کاهش هزینه‌ای تولید، کاهش آلودگی آب‌های سطحی و زیر زمینی، کاهش باقیمانده آفت‌کش‌ها در مواد غذایی، کاهش کلی خطر در کشاورزی و افزایش سودبخشی کوتاه و بلندمدت کشاورزی، تعریف می‌گردند (Tiffany *et al*, 2011). (Pointereau *et al*, 2008). کشاورزی کم‌نهاد را به‌عنوان سیستم‌هایی که با کاهش استفاده از نهاده‌ها مدیریت می‌شوند، تعریف می‌کنند. آن‌ها معتقدند که یک سیستم کم‌نهاد از برخی از محدودیت‌ها و یا تنش‌ها رنج می‌برد و این محدودیت‌ها عمدتاً ناشی از کمبود نیتروژن، فسفر و یا تأمین آب کافی می‌باشد و در نهایت منجر به کاهش عملکرد می‌گردد.

اصلاح و معرفی ارقام جدید در لوبیا، تاکنون با هدف رسیدن به حداکثر عملکرد دانه در واحد سطح صورت پذیرفته و حال آن‌که با توجه به کاهش ارزش زراعی اراضی زیرکشت این محصول و عوامل محدودکننده تولید نظیر کمبود آب در سال‌های اخیر، متأسفانه شاهد اختلاف محسوس بین عملکرد پتانسیل و عملکرد بالفعل این ارقام و از طرفی عدم ثبات عملکرد در سال‌های مختلف می‌باشیم. با توجه به این‌که ژنوتیپ‌های لوبیاجیتی موجود در کلکسیون ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای شهرستان خمین دارای طیف وسیعی از تنوع در صفات مختلف می‌باشند، لذا این احتمال وجود دارد که در بین آن‌ها ژنوتیپ‌های دارای کارایی مصرف منابع بالا و مطلوب و سازگار با شرایط کم‌نهاد وجود داشته باشد.

شاخص‌های متعددی برای ارزیابی عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها در شرایط محیطی مختلف و تعیین مقاومت و حساسیت آن‌ها ارائه شده است. (1981) Rosielle & Hamblin شاخص‌های تحمل (TOL) و میانگین حسابی (MP) را معرفی کردند. مقدار بالای TOL نشانه حساسیت ژنوتیپ به شرایط کم‌نهاد بوده و انتخاب ژنوتیپ‌ها بر اساس مقادیر کمتر این شاخص و مقادیر بالای MP انجام می‌شود. (1978) Fisher & Maurer

^۱ Low Input Farming System (LIFS)

واقع شده است. ژنوتیپ‌ها در قالب طرح آماری آگمنت با ۱۸ بلوک و در دو شرایط مدیریت زراعی معمول و مدیریت زراعی کم‌نهاده مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای ارزیابی یکنواختی بلوک‌ها از لاین COS-16 دارای تیپ بوته یک (ایستاده رشد محدود)، رقم کوشا دارای تیپ بوته ۲ (ایستاده رشد نامحدود) و رقم صدی دارای تیپ بوته ۳ (رونده رشد نامحدود) به عنوان شاهد آزمایش استفاده شد. شاهد‌های آزمایشی به صورت تصادفی در داخل هر بلوک قرار گرفتند. نحوه آماده سازی زمین موردنظر برای کشت و همچنین اجرای هر یک از مدیریت‌های زراعی، بر اساس جدول شماره ۱ صورت پذیرفت. بذر هر یک از ژنوتیپ‌ها بر روی دو خط به طول یک متر و با فاصله ۱۰ سانتی‌متر از یکدیگر کاشته شد. همچنین فاصله ردیف‌های کشت از یکدیگر ۵۰ سانتی‌متر بود.

معرفی نموده و بیان کردند که برنامه‌های اصلاحی به منظور انتخاب ارقام مناسب کشت در سیستم‌های کم‌نهاده می‌تواند در جهت افزایش پایداری در تولید این محصول و حفاظت از محیط‌زیست بسیار موثر باشد.

هدف از این بررسی، شناسایی ژنوتیپ‌های لوبیاچیتی مناسب جهت کشت در مدیریت‌های زراعی کم‌نهاده و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی و معرفی رقم این محصول بود.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی و غربال ژنوتیپ‌های لوبیاچیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) از نظر واکنش نسبت به مدیریت زراعی کم‌نهاده، آزمایشی با ۵۵۹ ژنوتیپ در سال ۱۳۹۳ در مزرعه ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای خمین به اجرا درآمد. این ایستگاه در ارتفاع ۱۹۳۰ متر از سطح دریا با طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۵۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۹ دقیقه

جدول ۱ - میزان نهاده‌های مصرفی و عملیات زراعی در مدیریت‌های زراعی مختلف لوبیا

Table 1. The consumption inputs and agronomic operations level in various bean agronomic managements (Ghadiry, 2014)

مدیریت‌های زراعی (Agronomic Managements)		
نهاده مصرفی (Consumption Inputs)	متداول (Conventional)	کم‌نهاده (Low Input)
۱- عملیات تهیه زمین (Preparation of Seed Bed)		
شخم (Plow)	2	1
دیسک (Disk Harrow)	3	2
لولر (Leveler)	2	1
فاروئر (Furrower)	1	1
۲- کود (Fertilizers)		
N (Kg/ha)	Based On Soil Test Results	- 50%
P ₂ O ₅ (Kg/ha)	Based On Soil Test Results	- 50%
K ₂ O (Kg/ha)	Based On Soil Test Results	- 50%
Iron Sequestrine (Kg/ha)	Based On Soil Test Results	- 50%
Manure (t/ha)	-	40
۳- مبارزه با علف‌های هرز (Weed Control)		
کنترل شیمیایی (Chemical Control)	2	0
وجین دستی (Hand Weeding)	-	1 or 2
۴- مبارزه با آفات در صورت نیاز (Pests Control)		
۵- آبیاری (فواصل به روز با مقدار مشخص آب)	2	1
۵- آبیاری (فواصل به روز با مقدار مشخص آب)	5	10
Irrigation (Irrigation period with identified water used)		

$$\text{Mean Productivity (MP)} = (Y_p + Y_s) / 2$$

شاخص میانگین هندسی بهره‌وری متوسط (Fernandez, 1993).

$$\text{Geometric Mean productivity (GMP)} = \sqrt{Y_p \times Y_s}$$

به منظور بررسی میزان تغییرات عملکرد دانه در دو شرایط مدیریت زراعی معمول و کم‌نهاده، درصد تغییرات این صفت اندازه‌گیری شد. با توجه به عملکرد ژنوتیپ‌ها در دو شرایط ذکر شده، شاخص‌های زیر محاسبه گردیدند:

شاخص بهره‌وری متوسط (Rosielle & Hamblin, 1981).

محاسبه شاخص‌ها، همبستگی بین آن‌ها، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بین آن‌ها انجام شد و بدین‌منظور از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید.

نتایج و بحث

به‌منظور بررسی وضعیت یکنواختی ماده آزمایشی با در نظر گرفتن قطعات کشت به‌عنوان بلوک و شاهد‌ها به‌عنوان تیمار، تجزیه واریانس به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در هر دو محیط انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که واریانس مربوط به بلوک در صفات مورد ارزیابی مثل عملکرد دانه و تعداد بوته در مترمربع معنی‌دار نبود که نشان‌دهنده یکنواختی بلوک‌ها بوده و در نتیجه نیازی به تصحیح داده‌ها نبود (جدول ۲).

شاخص تحمل (Rosielle & Hamblin, 1981).

$$\text{Tolerance (TOL)} = Y_p - Y_s$$

شاخص تحمل به تنش (Fernandez, 1993).

$$\text{Stress Tolerance Index (STI)} = (Y_p)(Y_s)/(\bar{Y}_p)^2$$

شاخص حساسیت به تنش (Fisher & Maurer, 1978).

(1978).

$$\text{Stress Susceptibility Index (SSI)} = \frac{1 - \frac{Y_s}{\bar{Y}_p}}{1 - \frac{\bar{Y}_s}{\bar{Y}_p}}$$

در این روابط Y_p عملکرد هر ژنوتیپ در مدیریت زراعی معمول، Y_s عملکرد هر ژنوتیپ در مدیریت زراعی کم‌نهاد، $\bar{Y}_p$ میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در مدیریت زراعی معمول و $\bar{Y}_s$ میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط کم‌نهاد می‌باشد. پس از

جدول ۲- آزمون یکنواختی ماده آزمایشی در بلوک‌های مدیریت زراعی معمول و کم‌نهاد

Table 2. Uniformity test of experimental material in conventional and low input agronomic management blocks

میانگین مربعات (M.S)			مدیریت زراعی معمول (Conventional Management)		مدیریت زراعی کم‌نهاد (Low Input Management)	
S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی d.f.	تعداد بوته در متر مربع Plants/m ²	عملکرد دانه Yield	تعداد بوته در متر مربع Plants/m ²	عملکرد دانه Yield
Block	بلوک	17	91.68 ^{n.s}	1506676.95 ^{n.s}	89.93 ^{n.s}	588407.71 ^{n.s}
Treatment	تیمار	2	84.96 ^{n.s}	345330.22 ^{n.s}	541.72 ^{**}	4380005.14 ^{**}
Error	خطا	34	125.39	1468285.92	45.89	393151.02
% CV	ضریب تغییرات	-	24.53	18.83	21.32	19.14

S.O.V: Source of Variation

CV: Coefficient of Variation percentage

d.f.: Degree of Freedom

Mohammadi *et al*, (2008) در ارزیابی ۱۵ ژنوتیپ لوبیا سفید در شرایط تنش خشکی بیان کردند با توجه به این‌که بهترین شاخص‌ها جهت گزینش ژنوتیپ‌ها، شاخص‌هایی هستند که منجر به انتخاب ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در هر دو شرایط تنش و عدم تنش باشند، لذا شاخص‌های GMP یا STI به‌عنوان بهترین شاخص‌ها برای انتخاب ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در هر دو شرایط تنش و بدون تنش و شاخص SSI برای انتخاب ژنوتیپ‌هایی با کمترین حساسیت به تنش خشکی مناسب است. ایشان بیان نمودند که انتخاب بر اساس STI و بر علیه SSI بهترین ژنوتیپ‌ها را از نظر عملکرد و تحمل به خشکی نشان می‌دهد. Grezesaik *et al*, (1996) مقدار شاخص SSI در ارقام مقاوم را کمتر از ۰/۳۱ و در ارقام حساس بیشتر از ۰/۴۴ عنوان کردند.

عملکرد دانه در شرایط معمول، با شاخص‌های بهره‌وری متوسط، میانگین هندسی بهره‌وری، شاخص تحمل به شرایط کم‌نهاد، شاخص حساسیت به شرایط کم‌نهاد و شاخص تحمل دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری بود. همچنین عملکرد دانه در شرایط کم‌نهاد با شاخص‌های میانگین هندسی بهره‌وری، بهره‌وری متوسط و تحمل به شرایط کم‌نهاد دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار و با شاخص حساسیت به شرایط کم‌نهاد و شاخص تحمل دارای همبستگی منفی و معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به همبستگی عملکرد در شرایط مطلوب و کم‌نهاد ($r=0.34^{**}$, $n=559$) معلوم شد که گزینش لاین‌ها بر اساس عملکرد دانه در هر دو شرایط می‌تواند ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا و دارای پایداری تولید را حاصل نماید.

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین عملکرد دانه در هر دو شرایط مطلوب و کم‌نهاد و شاخص‌های تحمل به تنش

Table 3. Correlation coefficients between seed yield in two desirable and low input conditions and stress tolerance indices

Indices شاخص‌ها	YP عملکرد در شرایط متداول	YS عملکرد در شرایط کم‌نهاد	MP میانگین تولید	GMP میانگین هندسی تولید	STI شاخص تحمل	SSI شاخص حساسیت	TOL تولید
YP							
YS	0.342**						
MP	0.911**	0.700**					
GMP	0.740**	0.877**	0.948**				
STI	0.731**	0.830**	0.921**	0.960**			
SSI	0.376**	-0.676**	-0.012	-0.277**	-0.227**		
TOL	0.828**	-0.244**	0.522**	0.240**	0.259**	0.791**	

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

YP: yield in potential condition; YS: yield in stress (low input) condition; MP: mean productivity; GMP: geometric mean productivity; STI: stress tolerance index; SSI: stress susceptibility index; TOL: tolerance index

ژنوتیپ‌های موجود در این خوشه در انتهای مقاله ارائه گردیده است (جدول ۶).

بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر روی پنج شاخص و Y_P و Y_S در ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی، ملاحظه شد که دو مؤلفه اصلی ۹۷/۷۶ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه کردند (جدول ۵).

مؤلفه اول ۱/۸ درصد از کل تغییرات داده‌ها را بیان کرد. بیشترین ضریب مثبت در ترکیب خطی مؤلفه اول مربوط به Y_P ، Y_S ، MP ، GMP و STI بود. لذا این مؤلفه به‌عنوان مؤلفه عملکرد و تحمل به شرایط کم‌نهاد نام‌گذاری شد. نظر به این که مقادیر بالای این شاخص‌ها مطلوب هستند، با توجه به مقادیر مثبت و بالای این مؤلفه، نسبت به گزینش ژنوتیپ‌هایی که عملکرد بالایی را در هر دو شرایط معمول و کم‌نهاد داشتند اقدام گردید.

مؤلفه دوم ۳۵/۹ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه کرد. بیشترین ضریب مثبت در ترکیب خطی این مؤلفه مربوط به شاخص‌های TOL ، SSI و تا حدودی Y_P بود و بیشترین ضریب منفی مربوط به Y_S بود. از این‌رو این مؤلفه با عنوان مؤلفه حساسیت به شرایط کم‌نهاد نام‌گذاری گردید. ژنوتیپ‌هایی که دارای مقادیر پایین مؤلفه دوم بودند، دارای کمترین حساسیت به شرایط کم‌نهاد بودند. *Asadi et al.* (2011) در ارزیابی ۱۰۶ ژنوتیپ لوبیاچیتی تحت شرایط تنش آبی بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی شاخص‌های تحمل گزارش نمودند که دو مؤلفه اصلی ۹۸/۶ درصد از تغییرات را توجیه کرد و بر اساس این دو مؤلفه شش ژنوتیپ متحمل به

(2004) *Schneider et al.* نیز شاخص مناسب جهت انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش را GMP معرفی کردند. *Porch et al.* (2009) در بررسی ۲۹ ژنوتیپ لوبیا در شرایط تنش خشکی به مدت دو سال با استفاده از شاخص GMP تعداد پنج ژنوتیپ برتر را شناسایی کردند تا از آن‌ها به‌عنوان والدین در برنامه‌های اصلاحی و تجزیه‌های ژنتیکی استفاده شود.

بر اساس تجزیه کلاستر انجام‌شده، ژنوتیپ‌های لوبیا در پنج خوشه قرار گرفتند (به دلیل تعداد زیاد ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ارائه دندوگرام مربوطه در مجال این مقاله نبود و صرفاً به ارائه جدول بسنده گردیده است). ژنوتیپ‌های خوشه ۱ که بیشترین تعداد ژنوتیپ‌ها را شامل می‌شد، از نظر شاخص‌های مطلوب مانند GMP و STI دارای مقادیر کمتر از میانگین کل و از نظر شاخص SSI دارای مقادیر بالاتر از میانگین کل بودند (جدول ۴)؛ لذا برای کشت در شرایط کم‌نهاد مناسب نبودند.

ژنوتیپ‌های خوشه ۳ نیز به دلیل مقادیر بالای شاخص حساسیت به تنش (SSI) و ژنوتیپ‌های خوشه ۴ و ۵ نیز به دلیل مقادیر بالای شاخص TOL ، مطلوب نبوده و انتخاب نشدند. در نهایت ژنوتیپ‌های خوشه ۲ از نظر شاخص‌های GMP و STI نسبت به میانگین کل به ترتیب ۷۶/۸ و ۱۸۱/۲ درصد بیشتر و از نظر شاخص‌های SSI و TOL به ترتیب ۶۰ و ۴۸/۵ درصد کمتر از میانگین کل بودند و لذا به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر برای کشت در بوم نظام‌های زراعی کم‌نهاد، انتخاب گردیدند. لیست

دارای مقادیر بالاتر از میانگین و از نظر شاخص حساسیت به شرایط کم‌نهاد (SSI) دارای مقادیر کمتر از میانگین بودند، بنابراین مناسب‌ترین ژنوتیپ‌ها محسوب می‌شوند. با توجه به عملکرد و شاخص‌های تحمل به شرایط کم‌نهاد، ژنوتیپ‌های Ks-21184، Ks-21119، Ks-92021، Ks-21280، Ks-21461، Ks-21362، Ks-92198، Ks-21671، Ks-21673 و Ks-21236 (گروه ۱) به عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها از نظر کشت در مدیریت‌های زراعی کم‌نهاد شناسایی و انتخاب گردیدند.

تنش خشکی را انتخاب نمودند. Mohammadi *et al*, (2008) نیز بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی شاخص‌های تحمل گزارش کردند که دو مؤلفه اصلی ۹۹ درصد از تغییرات را توجیه کرد و بر اساس این دو مؤلفه پنج ژنوتیپ متحمل به تنش خشکی را گزینش کردند. بر اساس بای‌پلات حاصل از دو مؤلفه اصلی، ژنوتیپ‌ها در چهار گروه قرار گرفتند (شکل ۱). ژنوتیپ‌های ناحیه A از نظر شاخص‌های تحمل به شرایط کم‌نهاد (MP، GMP و STI)

جدول ۴- خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های لوبیاچیتی بر اساس شاخص‌های حساسیت و تحمل به تنش، تحت مدیریت‌های زراعی متداول و کم‌نهاد

Table 4. Clustering of Pinto bean genotypes based on stress susceptibility and tolerance indices, in conventional and low input managements

خوشه‌ها Clusters	تعداد ژنوتیپ در خوشه Number of genotypes in cluster	عملکرد شرایط متداول Yp	عملکرد شرایط کم‌نهاد Ys	میانگین بهره‌وری MP	میانگین هندسی بهره‌وری GMP	شاخص تحمل TOL	شاخص تحمل به تنش STI	شاخص حساسیت به تنش SSI	Mean میانگین
1	529	3128.8	1401.4	2265.1	2031.4	1727.4	0.42	0.96	Mean میانگین
		-%4.2	-%5.7	%4.7	-%4.9	-%2.9	-%12.5	%1.05	درصد انحراف از میانگین کل % Deviation from Total Average
2	18	4270.9	3355.3	3813.1	3776	915.6	1.35	0.38	Mean میانگین
		%30.8	%125.7	%60.5	%76.8	-%48.5	%181.2	-%60	درصد انحراف از میانگین کل % Deviation from Total Average
3	8	7314.2	1846.2	4580.2	3619.2	5468	1.24	1.37	Mean میانگین
		%124	%24.2	%92.8	%69.5	%207.5	%158.3	%44.2	درصد انحراف از میانگین کل % Deviation from Total Average
4	2	7076	3900	5488	5221.1	3176	2.56	0.82	Mean میانگین
		%116.7	%162.3	%131	%144.5	%78.6	%433.3	-%13.7	درصد انحراف از میانگین کل % Deviation from Total Average
5	2	10238.35	3394	6816.1	5869.21	6844.3	3.24	1.23	Mean میانگین
		%213.6	%128.3	%186.9	%174.8	%284.9	%575	%29.47	درصد انحراف از میانگین کل % Deviation from Total Average
		3265	1486.7	2375.9	2135.5	1778.3	0.48	0.95	Mean میانگین کل Total Average

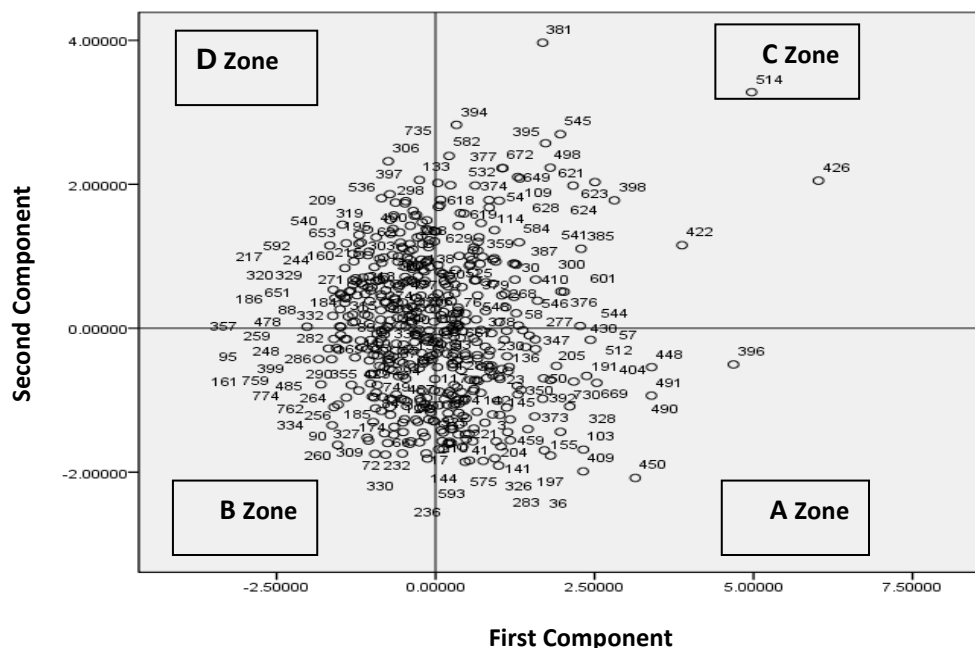
YP: yield in potential condition; YS: yield in stress (low input) condition; MP: Mean Productivity; GMP: Geometric Mean Productivity; STI: Stress Tolerance Index; SSI: Stress Susceptibility Index; TOL: Tolerance Index

جدول ۵- ضرایب ترکیب خطی مؤلفه‌های اصلی شاخص‌های تحمل به تنش

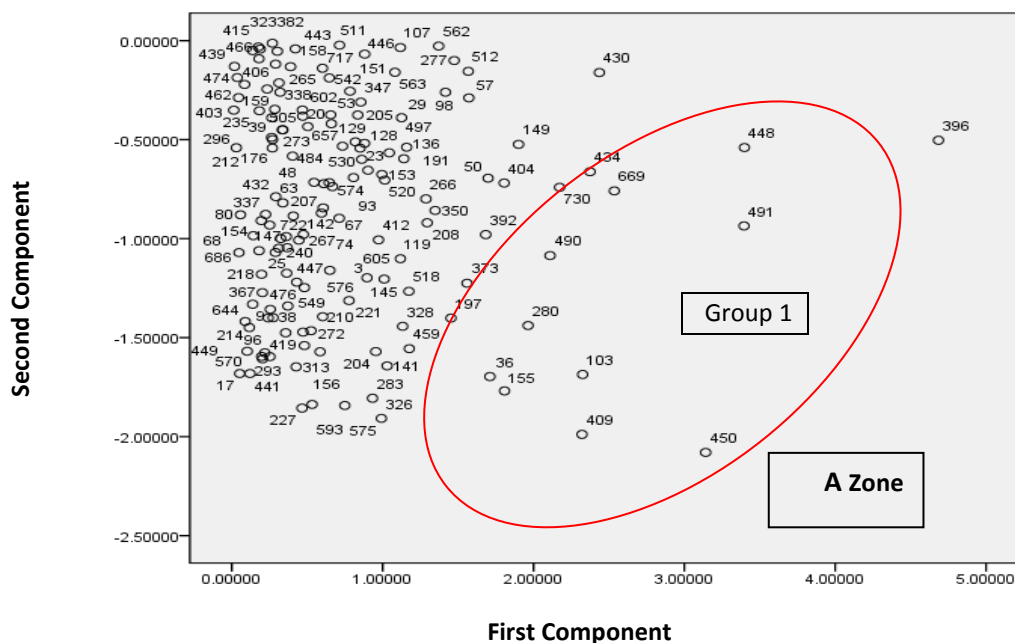
Table 5. Linear combination principal components of tolerance indices

شاخص‌های مورد مطالعه Indices							مؤلفه Component
TOL	SSI	STI	GMP	MP	YS	YP	مقادیر ویژه Eigen values
0.425	-.0107	0.961	0.977	0.991	0.771	0.858	61.830
0.896	0.967	-0.152	-0.189	0.107	-0.629	0.505	35.920

YP: yield in potential condition; YS: yield in stress (low input) condition; MP: Mean Productivity; GMP: Geometric Mean Productivity; STI: Stress Tolerance Index; SSI: Stress Susceptibility Index; TOL: Tolerance Index



شکل ۱- بای پلات شاخص‌های تحمل به مدیریت کم‌نهاد در ۵۵۹ ژنوتیپ لوبیاچیتی بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم
Fig. 1. Biplot indices of low input management tolerance in 559 genotypes of Pinto bean on the first and second principal components



شکل ۲- نمای زوم شده ناحیه A بای پلات شاخص‌های تحمل به مدیریت کم‌نهاد در ژنوتیپ‌های لوبیاچیتی بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم
Fig. 2. Zoom view of A zone from biplot indices of low input management tolerance in genotypes of Pinto bean on the first and second principal components

جدول ۶- لیست ژرم پلاسما لوبیاچیتی موجود در خوشه ۲

Table 6. The list of Pinto Bean Genotypes contained in Cluster 2

ردیف	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	ردیف	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ
No.	Genotype code	Genotype name	No.	Genotype code	Genotype name
1	450	Ks-21673	10	392	Ks-21479
2	409	Ks-21625	11	404	Ks-21520
3	155	Ks-21236	12	50	Ks-21131
4	36	Ks-21119	13	491	Ks-92022
5	103	Ks-21184	14	730	Ks-92257
6	197	Ks-21280	15	669	Ks-92198
7	280	Ks-21362	16	434	Ks-21655
8	373	Ks-21461	17	149	Ks-21230
9	490	Ks-92021	18	448	Ks-21671

سیاسگزاری

بدین وسیله از گروه زراعت دانشکده کشاورزی و معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد (کد طرح

شماره ۳۱۳۹۵) و همچنین کلیه همکاران ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای خمین به خاطر کمک در اجرای این آزمایش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Anonymous. 2013. FAO. Statistics of agriculture crops in the word. <http://www.fao.org>.
2. Asadi, B., Dorri, H.R., and Ghadir, A. 2011. Evaluation of chitti bean genotypes to drought stress using stress tolerance indices. Seed and Plant Improvement Journal 27(1): 615-630. (In Persian with English Summary).
3. Brummer, E.C., Barber, W.T., Collier, S.M., Cox, T.S., Johnson, R., Murray, S.C., Olsen, R.T., Pratt, R. C., and Thro, A.M. 2011 . Plant breeding for harmony between agriculture and the environment. Frontiers in Ecology and the Environment 9(10): 561-568.
4. Dambroth, D., and El Bassam, N. 1983. Low input varieties: definition, ecological requirements and selection. Plant Soil 72: 365-377.
5. El Bassam, N. 1998. A concept of selection for low input wheat varieties. Euphytica 100: 95-100.
6. Fernandez, G.C. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: C.G. Kuo (Ed.) Adaptation of Food Crops to Temperature and Water Stress. AVRDC, Shunhua, Taiwan. p: 257-270.
7. Fisher, R.A., and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research 29: 897-912.
8. Koocheki, A., Hamdy, A., Karam, F., Abdelmalek, M., and Nassar, A. 1994. Sustainable aspects of traditional land management in Iran. Paper Presented at the International Conference on Land and Water Resources Management in the Mediterranean Region, Sep 4-8, 1994. Valenzano, Bari, Italy. P: 559-572.
9. Ghadir, A., Dorri, H.R., and Asadi, B. 2014. Evaluation of water use efficiency trend in various common bean agronomic systems (Extended Abstract). In: Abstract Book of the 5th Iranian Pulse Crops Conference. 26 Feb 2014. Karaj, Agricultural and National Resource College of Tehran University. p: 465-468 (In Persian).
10. Ghadir, A., Dorri, H.R., and Asadi, B. 2014. Study on nitrogen use efficiency in various common bean agronomic systems (Extended Abstract). In: Abstract Book of the 5th Iranian Pulse Crops Conference. 26 Feb 2014. Karaj, Agricultural and National Resource College of Tehran University. p: 431-434 (In Persian).
11. Grezesaik, S., Filek, W., Skrudlik, G., and Nizoli, B. 1996. Screening for drought tolerance: Evaluation of seed germination and seedling growth for drought resistance in legume plants. Journal of Agronomy and Crop Science 77: 245-252.
12. Mohammadi, A., Bihanta, M.R., Soluoki, M., and Dorri H.R. 2008. Study on quantitative and qualitative traits and their relationship with grain yield in white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under optimum and limited irrigation conditions. Iranian Journal of Crop Science 10(3): 231-243. (In Persian with English Summary).

13. Pointereau, P., Bochu, J.L., and Doublet, S. 2008. Characterization and elements for a definition and analysis of low input farming systems. In: K. Biala, J.M Terres, P. Pointereau and M.L. Paracchini (Eds.). Low input farming systems: an opportunity to develop sustainable agriculture. Proceedings of the JRC Summer University, Ranco, 2-5 July 2007. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability, Ispra, Italy, p. 28-32.
14. Porch, T.G., Ramirez, V.H., Santana, D., and Harmsen, E.W. 2009. Evaluation of common bean for drought tolerance in Juana Diaz, Puerto Rico. *Journal of Agronomy and Crop Science* 195: 328-334.
15. Rosielli, A.A., and Hamblin, J. 1981. Theoretical aspect of selection for yield in stress and non-stress environments. *Crop Science* 21: 943-946.
16. Schneider, K.A., Rosales-Serna, R., Ibarra-Perez, R., Cazares-Enriquez, B., Acosta-Gallegos, J.A., Ramirez-Vallejo, P., Wassimi, N., and Kelly, J.D. 2004. Improving common bean performance under drought stress. *Crop Science* 37: 43-50.
17. Schneider, D., Fossati, D., and Mascher, F. 2006. Breeding for varieties adapted to low-input conditions: Should we use old varieties? In *Workshop on Cereal Crop Diversity: Implications for Production and Products*. p. 112.
18. Tiffany, L.F., James B.K., and Vagner, A.B. 2011. Crop breeding for low input agriculture: a sustainable response to feed a growing world population. *Sustainability* 3: 1742-1772.

Evaluation and identification of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes suitable for low Input farming systems based on stress tolerance indices

Ghadiry¹, A., Rezvani Moghaddam^{2*}, P., Bagheri³, A., Ghorbani², R. & Beheshti⁴, A.R.

1- Ph.D Student in Agroecology, Department of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad, adelgh_m@yahoo.com

2- Professor, Department of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad

3- Professor, Biotechnology and Plant Breeding Department & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, abagheri@um.ac.ir

4- Associate Professor, Agricultural and National Resource Research Center of Khorasan-e-Razavi, arbeheshi81@yahoo.com

Received: 5 November 2015

Accepted: 9 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.47172

Introduction

Legumes such as Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), in addition to the value of food and proteins production, they are able to fix biological nitrogen and therefore, are desirable for planting in sustainable agricultural systems in order to strengthen and preserve soil fertility. Low input farming systems (LIFS), which are a part of sustainable agricultural systems was defined as a way to optimize the use of ecological inputs and to minimize the use of inputs such as chemical fertilizers and pesticides in every time and every place to reduce the cost of production, reduce pollution of groundwater and surface water, reduce of pesticide residues in food, reduce total risk in agriculture and an increase in short and long term profitability of agriculture. Evaluation and identification of the suitable cropping plant cultivars for planting in low-input agricultural systems has begun three decades ago, in the world. The aim of this study was to identify of pinto bean genotypes suitable for cultivation in low input crop management system and use them in breeding programs and the cultivar release process of this crop.

Material & Methods

In order to evaluate Pinto bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) in terms of response to low input crop management, 559 Pinto bean genotypes were evaluated using augmented design in both conventional, and low-input crop management conditions. According to grain yield of genotypes in the two conditions, MP, GMP, TOL, STI and SSI were calculated and then, the correlation between the index and the main component analysis was performed. All Statistical analysis, correlation estimates, factor analysis and graphs performed using SPSS software.

Results & Discussion

According to correlation between grain yield in optimal and low input conditions ($r=0.34^{**}$, $n=559$), it was found that genotype selection based on grain yield in both conditions can identify genotypes with high yield and stable production. The correlation between grain yield in conventional condition and MP, GMP, STI, SSI and TOL was positive and significant. In addition, the grain yield in low input condition had a positive significant correlation with GMP, MP and STI. Negative significant correlation was shown between grain yield in low input condition and SSI and TOL. According to cluster analysis, the bean genotypes were

*Corresponding Author: rezvani@um.ac.ir, Tel.: 05138805796

placed in 5 cluster that genotypes in cluster 2, in term of GMP and STI were 76% and 181% higher than overall average and in term of SSI and TOL were 60% and 48.5% lower than overall average, respectively. Therefore, they were selected as the best genotypes for cultivation in low input conditions. Based on the main component analysis on five indexes and YP and YS in evaluated genotypes, it was observed that two main component explained 97.8 percent of the total variation. The first and two principle components explained 61.8% and 35.9% of total variation, respectively. The highest positive factor in the linear combination of the first component was related to Yp, YS, MP, GMP and STI. Therefore, this component was called as yield component and tolerance to low input conditions. Because of high levels of these indicators are favorable, due to the positive and high values of these component, to select genotypes were acted that have a higher grain yield in both conventional and low input conditions. The highest positive factor in the linear combination of second component was related to SSI, TOL and a little Yp and the highest negative factor was related to Ys. So this component was called as sensitive to low input conditions. The genotypes that had lower values of second component had the least sensitive to low input conditions. According to biplot of two main components, genotypes were classified into four groups. Genotypes that were in the A zone, in terms of the tolerance index to low input conditions (MP, GMP and STI) have higher values than average and in terms of the sensitivity index to low input conditions (SSI) have lower values than average so they were most suitable genotypes.

Conclusion

According to grain yield and tolerance indexes to low in put condition, the group 1 genotypes (Ks-21184, Ks-92021, Ks-21119, Ks-21280, Ks-21461, Ks-21362, Ks-92198, Ks-21671, Ks-21673 and Ks-21236) as the best genotypes for cultivation in low input farming systems (LIFS) were identified and selected.

Key words: Pinto bean, Seed Yield, Stress Tolerance Index

تأثیر تغذیه بر گی میکرو و نانو ذرات عنصر روی بر برخی صفات رشدی و کیفی ماش (*Vigna radiata* L.) در شرایط تنش خشکی

حسن مکاریان^{۱*}، حسن شجاعی^۲، علی دماوندی^۳، عباس نصیری دهسرخ^۴ و احمد اخیانی^۵

- ۱- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود
- ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان
- ۳- مربی آموزشی و عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان
- ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد اگرواکولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود
- ۵- استادیار خاکشناسی (تغذیه گیاهان)، مرکز تحقیقات کشاورزی سمنان (شاهرود)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۶

چکیده

به منظور بررسی اثرات محلول پاشی عنصر روی بر رشد و عملکرد ماش تحت تأثیر تنش آب، آزمایشی به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی شاهرود در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش کم آبی در دو سطح: یک نوبت قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، یک نوبت قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد غلافدهی و شاهد (آبیاری کامل)، به عنوان کرت اصلی و تیمارهای محلول پاشی عنصر روی در کرت های فرعی در چهار سطح پنج و ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی (Nano-ZnO) و پنج و ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی (ZnO) و شاهد (بدون محلول پاشی) بودند. نتایج نشان داد محلول پاشی عنصر روی به شکل های معمولی و نانو، ارتفاع گیاه، محتوای پروتئین و عملکرد بیولوژیک و دانه را در حالت تنش خشکی و عدم تنش خشکی به طور معنی داری افزایش داد. بیشترین تأثیر عنصر روی بر گیاه به ترتیب مربوط به کاربرد ۱۰ گرم نانو اکسید روی، ۱۰ گرم اکسید روی، پنج گرم نانو اکسید روی و پنج گرم اکسید روی بود. محلول پاشی با ۱۰ گرم نانو ذرات اکسید روی در شرایط عدم تنش، تنش در گلدهی و غلافدهی به ترتیب باعث افزایش ۶/۶، ۳/۶ و ۵/۴ درصدی عملکرد نسبت به عدم کاربرد آن گردید. بر اساس نتایج این پژوهش، محلول پاشی عنصر روی به صورت نانو ذرات نسبت به اکسید روی معمولی تأثیر بیشتری بر کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه ماش نشان داد.

واژه های کلیدی: تنش کم آبی، عملکرد دانه، محتوای پروتئین

مقدمه

دنیا کشت می شود و نقش به سزایی در تغذیه مردم کشورهای در حال توسعه دارد. یکی از مهم ترین عوامل کاهش دهنده عملکرد ماش وقوع تنش خشکی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه است که از طریق تسریع تاریخ ظهور جوانه گل و طول دوره رشد گیاه، سبب کاهش عملکرد می گردد (Kashiwagi et al., 2003).

تغییرات در فناوری های مرتبط با کشاورزی، عامل عمده شکل دهی کشاورزی مدرن است. فناوری نانو موقعیت برجسته ای در دگرگونی تولیدات کشاورزی به خود اختصاص داده است. توسعه نانو دستگاه ها و نانو مواد می تواند کاربردهای جدیدی را در بیوتکنولوژی گیاهی و کشاورزی داشته باشد و اجازه پیشرفت های گسترده ای را در پژوهش های کشاورزی از جمله در تکنولوژی بذر، کاهش اتلاف انرژی مواد غذایی و

در کشور ایران اقلیم خشک و نیمه خشک اغلب مناطق را تحت تأثیر قرار داده و خصوصاً خشکسالی های اخیر بر مشکل کم آبی افزوده است (Laalini et al., 2012). از طرفی تنش کمبود آب جزء تنش های عمومی می باشد که آثار بسیار نامطلوبی بر رشد و نمو گیاهان می گذارد (Blum, 2005). در بین گیاهان زراعی، لگوم های دانه ای از عمده ترین منابع پروتئینی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب شده و نقش عمده ای در اقتصاد این مناطق دارند (Thomas et al., 2003). ماش با نام علمی *Vigna radiata* L. از جمله گیاهان خانواده بقولات است که در حال حاضر در قسمت های مختلف

* نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۵۳۵۸۴۰۴، h.makarian@yahoo.com

بهبود داده و تشکیل آوند چوبی را در مقایسه با گیاهان دارای کمبود روی افزایش دهد (El-Fouly *et al.*, 2011). کشور ایران در منطقه جغرافیایی خشک و نیمه خشک قرار گرفته است. گیاهان موجود در این مناطق، در مراحل مختلف رشد خود در معرض تنش خشکی هستند؛ از طرفی عناصر غذایی از قبیل روی می‌توانند در مقاومت گیاه به تنش های مختلف محیطی نقش به سزایی داشته باشند. از آنجاکه عنصر روی نقش مهمی در متابولیسم گیاهان دارد، لذا این پژوهش جهت تعیین اثر عنصر روی به شکل میکرو و نانو ذرات، بر صفات رشدی و کیفی گیاه ماش در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان شاهرود اجرا شد. این مزرعه در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی واقع شده است. ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۴۹ متر است. اقلیم منطقه از نوع خشک تا نیمه خشک و خاک محل آزمایش از نوع لوم رس می‌باشد. آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. عامل اصلی، تنش خشکی شامل قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدی و مرحله ۵۰ درصد غلافدهی و آبیاری کامل (شاهد) و عامل فرعی شامل محلول پاشی به دو شکل نانو اکسید روی و معمولی مشتمل بر چهار سطح پنج و ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی، پنج و ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی معمولی و شاهد (بدون محلول پاشی) بودند. زمین مورد نظر برای کشت در اسفند سال ۱۳۹۰ توسط گاواهن برگردان دار با شخم عمیق برگردانده شد. عملیات تکمیلی تهیه بستر شامل شخم سطحی، دیسک، تسطیح و آماده سازی کرت ها در اوایل خرداد ماه همان سال انجام شد. بر اساس آزمایش خاک، ۱۰۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل (P_2O_5) و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیترات آمونیوم (NH_4NO_3) مورد استفاده قرار گرفت. کود فسفات و یک سوم کود نیتروژن قبل کاشت مخلوط با خاک و مابقی کود نیتروژن به صورت سرک در دو مرحله طی فصل رشد استفاده گردید. کاشت بذر ماش در دهه سوم خرداد ۱۳۹۱ انجام شد. محلول پاشی یکبار در زمان ۴۰ روز بعد از کاشت و یکبار هم در زمان ۵۵ روز بعد از کاشت انجام شد. هر کرت آزمایشی شامل شش ردیف کاشت چهار متری با فاصله بین ردیف ۳۰ سانتی متر بود. در طول فصل رشد، وجین علف‌های هرز به صورت هر دو هفته یکبار و با دست انجام شد. برای نمونه برداری دو ردیف کناری و نیم متر ابتدا و انتهای هر

علوم گیاه پزشکی (پیشگیری بیماری‌ها و درمان گیاهان با نانو ذرات) می‌دهد (Scrinis & Lyons, 2007). نانو کودها آسان جذب گیاهان می‌شوند و از کودهای شیمیایی کارآمدتر هستند، با محیط زیست سازگار هستند، آلودگی ندارند، شوری خاک را افزایش نمی‌دهند و کیفیت خاک را افزایش می‌دهند (Mazaherinia *et al.*, 2010). در پژوهشی گزارش شد که کاربرد اکسید روی به شکل نانو ذرات تأثیر بیشتری در افزایش رشد ریشه نخود نسبت به شکل معمول آن داشت (Pandey, 2010). در آزمایشی گلخانه‌ای مشاهده شد که کاربرد پودر اکسید آهن نانو نسبت به اکسید آهن معمولی افزایش معنی داری در غلظت آهن گیاه، طول سنبله، ارتفاع گیاه، وزن دانه در سنبله، کل وزن خشک کاه و کلش، وزن هزاردانه و وزن دانه در گلدان در گندم (*Triticum aestivum* L.) داشته است. ممکن است این افزایش به دلیل خاصیت نانو ذرات و حلالیت بیشتر آن‌ها و سبک و کوچک بودن آن‌ها و شانس برخورد بیشتر ریشه‌ها به ذرات نانو نسبت به ذرات اکسید آهن معمولی باشد (Salehi & Tamaskoni, 2008). پژوهشگران قطر کم نانو ذرات را عامل جذب و انتقال بیشتر و تأثیرگذاری بیشتر آن‌ها می‌دانند (Monica & Cremonini, 2009).

کمبود عنصر روی در خاک تمام کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه دنیا گزارش شده است، همچنین گزارش شده است یکی از شایع ترین اختلالات تغذیه‌ای در گیاهان و خاک های مناطق مختلف جهان کمبود عنصر روی می‌باشد، به طوری که در مراحل اولیه رشد، کمبود عنصر روی رشد اولیه گیاهچه ها را به تأخیر انداخته و باعث حساسیت گیاهچه‌ها به دوره‌های خشکی بعدی می‌شود (Harris *et al.*, 2007). مطالعاتی در خصوص نقش عنصر روی در فیزیولوژی اندام‌های زایشی در بسیاری از گیاهان عالی انجام شده که بیانگر آن است که کمبود عنصر روی سبب تغییرات جزئی در اندام‌های زایشی گیاه شده که در نهایت کاهش تولید را به دنبال خواهد داشت. تغذیه برگی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم مصرف است (Swiader, 2000). در آزمایش El-Fouly *et al.* محلول پاشی عناصر آهن، منگنز و روی موجب بهبود رشد گندم تحت تنش شوری گردید. عنصر روی در افزایش کارایی مصرف آب نیز بسیار مؤثر است. کاربرد عنصر روی اثرات تنش آبی را تعدیل و رشد گیاه را افزایش می‌دهد. در آزمایش Sheykhbagloo *et al.* (2009) محلول پاشی سولفات روی در شرایط تنش آبی منجر به افزایش تعداد دانه در بلال، درصد پروتئین و روغن دانه ذرت (*Zea mays* L.) گردید. در همین راستا گزارش شده است که مصرف روی در غلظت‌های بالا در شرایط تنش خشکی می‌تواند رشد ریشه‌ها را

کاروتنوئیدها نیز از روش Arnone (1959) استفاده شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار MSTATC، ترسیم نمودارها با EXCEL و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر متقابل تنش در محلول‌پاشی در سطح یک درصد بر ارتفاع ماش معنی دار بود (جدول ۲).

کرت به عنوان حاشیه حذف شدند. مساحت نمونه برداری سه متر بود که در هر نمونه برداری ۱۰ بوته به صورت تصادفی انتخاب شد و پس از قطع کردن به منظور اندازه‌گیری صفات مورد نظر به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین بذر، بعد از خشک شدن کامل، بذرها به آزمایشگاه انتقال و با دستگاه کج‌دالال تک مدل ۲۱۰۰ ساخت کارخانه FOSS کشور سوئد میزان پروتئین دانه ارزیابی گردید. نیتروژن دانه با استفاده از روش کج‌دالال محاسبه گردید و بعد از ضرب شدن این مقدار در فاکتور پروتئینی ماش، درصد پروتئین دانه به دست آمد. برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و

جدول ۱- نتایج تجزیه شیمیایی و فیزیکی خاک مزرعه

Table 1. Physical and chemical analysis of soil

هدایت الکتریکی EC (dS m ⁻¹)	pH	O.C کربن آلی (درصد)	نیتروژن N (درصد)	فسفر P (ppm)	پتاسیم K (ppm)	روی Zn (ppm)	بافت خاک Soil texture
1.5	7.8	0.4	0.08	10	280	1.1	loam لومی

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی صفات ماش تحت تأثیر محلول‌پاشی عنصر روی و تنش خشکی

Table 2- Analyses of variance of some traits of mungbean due to foliar application of Zn and drought stress

میانگین مربعات MS											
عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک	پرولین	پروتئین دانه	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	شاخه فرعی	ارتفاع گیاه	درجه آزادی	منابع تغییر	Source of variation
Grain yield	Biological yield	Proline	Seed protein	Carotenoid content	Chlorophyll b	Chlorophyll a	number of branches	Height	df		
1869**	44000**	9**	77.76**	0.052 ^{ns}	0.0016**	0.001**	42.52**	71.48**	3	بلوک	Replication
4511**	156865**	4.33**	36.55**	0.002 ^{ns}	0.006**	0.007**	29.98**	50.51**	2	تنش	stress
57.43	41	0.63	1.76	0.035	0.0000	0.0000	0.19	0.08	6	خطای a	Error(a)
2495**	10352**	1.3**	5.91 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	22.21**	73.36**	4	محلول‌پاشی	foliar application
100.5*	1006**	0.22 ^{ns}	4.29 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	1.25**	2.11**	8	تنش × محلول‌پاشی	stress × foliar application
20.83	41.66	0.13	2.5	0.009	0.0001	0.0001	0.14	0.09	36	خطای b	Error(b)
17.93	14.38	18.6	18.31	19.95	16.4	14.17	18.21	15.67		ضریب تغییرات	C.V (%)

*, **, ^{ns} به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

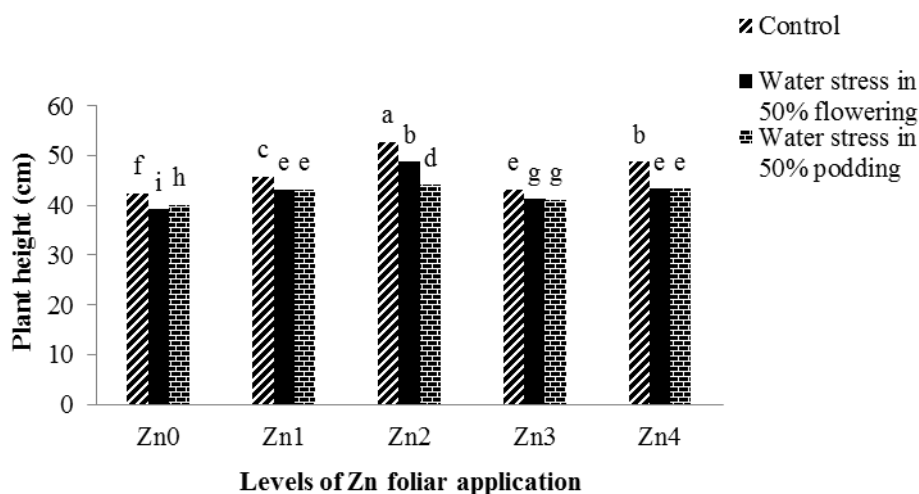
*, **, and ns: significant at $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$ and non-significant respectively.

تعدیل تنش خشکی داشت. در شرایط عدم تنش نیز محلول‌پاشی با ۱۰ گرم نانواکسید روی بیشترین ارتفاع را تولید کرد. در شرایط تنش، تخصیص مواد کربوهیدراتی بین قسمت‌های مختلف گیاه تغییر می‌کند، لذا گیاه سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی را به ریشه اختصاص می‌دهد و در نتیجه مواد فتوسنتزی کمتری به بخش‌های هوایی از جمله ساقه می‌رسد که این امر ضمن توسعه بخش جاذب رطوبت و عناصر غذایی

بررسی اثر متقابل تنش خشکی در محلول‌پاشی نشان داد که تنش خشکی در مراحل گلدهی و غلافدهی باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع بوته نسبت به شاهد گردید و این کاهش ارتفاع در مرحله گلدهی بیشتر از مرحله غلافدهی بود (شکل ۱). اما محلول‌پاشی با نانواکسید و اکسید روی توانست این کاهش ارتفاع را جبران و در این میان محلول‌پاشی با ۱۰ گرم نانواکسید روی نسبت به سایر سطوح محلول‌پاشی تأثیر بیشتری در

(al., 2006). در مطالعه دیگر نیز استفاده از محلول پاشی عنصر روی، نقش معنی داری در افزایش ارتفاع گیاه داشته است. مصرف کود روی به صورت محلول پاشی به مقدار یک لیتر در هکتار باعث افزایش ارتفاع سویا نسبت به شاهد گردید (Jamsom et al., 2009). بنابراین به نظر می رسد در شرایط تنش خشکی استفاده از نانو ذرات عنصر روی و روی معمولی تا حدود زیادی اثرات کاهش ارتفاع توسط کم آبی را جبران می کند.

(ریشه ها)، سبب کاهش سهم شاخساره و ارتفاع بوته می گردد (Silva et al., 2012). در آزمایشی قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد ماش، کاهش ارتفاع گیاه را به دنبال داشته است، اما محلول پاشی با عناصر روی، پتاسیم و منیزیم در این شرایط نقش تعدیل کننده داشت، به طوری که عنصر منیزیم در شرایط تنش در مرحله رویشی نقشی بیشتر از دو عنصر دیگر داشت، اما محلول پاشی روی در شرایط تنش در مراحل گلدهی و غلافدهی از منیزیم و پتاسیم مؤثرتر بوده است (Thalooth et



شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی عنصر روی بر ارتفاع بوته گیاه ماش

Zn0: شاهد، Zn1: ۵ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn2: ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn3: ۵ گرم در لیتر اکسید روی، Zn4: ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی

Fig. 1. Interaction effect of water stress and foliar application of Zn element on plant height of mungbean

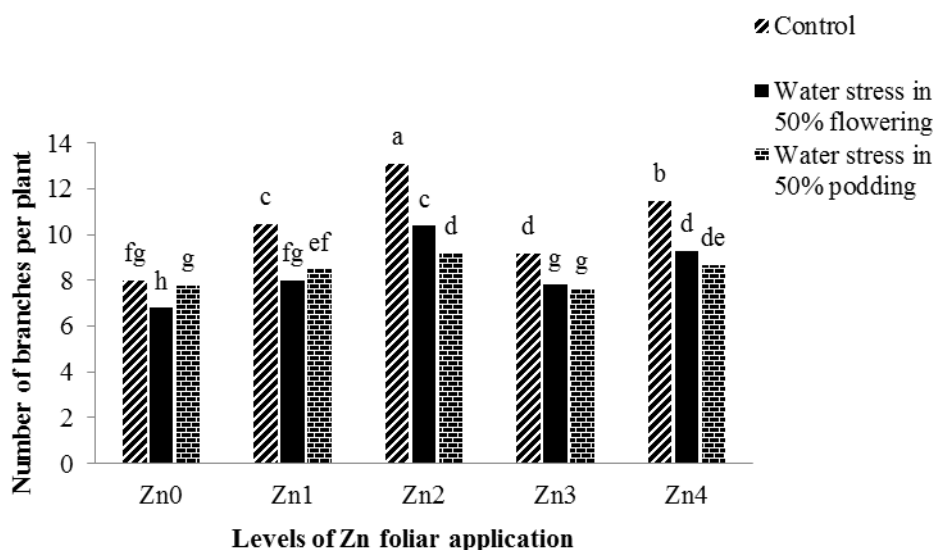
Zn0: Control, Zn1: 5 grams per liter nano zinc oxide, Zn2: 10 grams per liter nano zinc oxide, Zn3: 5 grams per liter zinc oxide, Zn4: 10 grams per liter zinc oxide

آبیاری در مرحله غلافدهی محسوس تر بود. اما محلول پاشی توانست کاهش تعداد شاخه در بوته توسط تنش را تعدیل کند و در این بین محلول پاشی با ۱۰ گرم نانو اکسید روی اثر بیشتری نسبت به سایر سطوح محلول پاشی داشته است (شکل ۲). نتایج نشان داد که کاربرد ۱۰ گرم نانو اکسید و اکسید روی معمولی در شرایط تنش توانست به طور معنی داری تعداد شاخه فرعی را نسبت به تیمار عدم تنش و عدم کاربرد روی افزایش دهد. در گیاهان دیگر نیز اثرات مثبت محلول پاشی با عناصر مختلف گزارش شده است. نتایج Pirzad et al, (2013) نشان داد کاربرد غلظت های ۲ و چهار در هزار عنصر روی باعث افزایش تعداد شاخه فرعی گیاه آنیسون (*Pimpinella anisum* L.) نسبت به شاهد گردید. (Thalooth et al, (2006) نشان دادند که در ماش تحت شرایط تنش خشکی تعداد شاخه های تولید شده در هر بوته به طور معنی داری کاهش می یابد. اما محلول پاشی با عنصر روی در مراحل رشد رویشی و زایشی

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر تنش خشکی، محلول پاشی و اثر متقابل تنش در محلول پاشی بر تعداد شاخه فرعی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارها نشان داد که قطع آبیاری در مرحله گلدهی اثر محدود کننده تری نسبت به قطع آبیاری در مرحله غلافدهی بر شاخه دهی دارد. تعداد شاخه فرعی در پاسخ به محلول پاشی به صورت معنی داری افزایش یافت، به طوری که در تیمار محلول پاشی با ۱۰ گرم نانو اکسید روی تعداد شاخه فرعی نسبت به شاهد افزایش ۴۷ درصدی نشان داد و پس از آن تیمار محلول پاشی با ۱۰ گرم اکسید روی، پنج گرم نانو اکسید روی و محلول پاشی با پنج گرم اکسید روی قرار داشتند (نتایج نشان داده نشده است). بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نشان داد که تنش باعث کاهش تعداد شاخه فرعی در بوته شد، به طوری که در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی این کاهش نسبت به تیمار قطع

روی به جهت جذب بیشتر نسبت به کود معمولی توانسته است تأثیر بیشتری بر تعداد شاخه فرعی گذاشته و مقدار این صفت را افزایش دهد.

به‌طور مؤثری از طریق تحریک جوانه‌های جانبی و همچنین افزایش تقسیم سلولی، از کاهش تعداد شاخه فرعی جلوگیری می‌کند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به‌نظر می‌رسد نانو اکسید



شکل ۲- اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی عنصر روی بر تعداد شاخه فرعی گیاه ماش

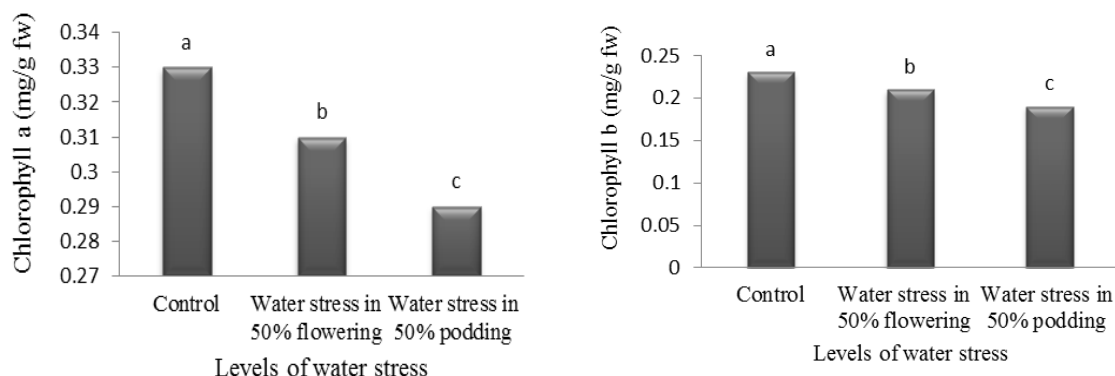
Zn0: شاهد، Zn1: ۵ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn2: ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn3: ۵ گرم در لیتر اکسید روی، Zn4: ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی

Fig. 2. Interaction effect of water stress and foliar application of Zn element on number of branches of mungbean
Zn0: Control, Zn1: 5 grams per liter nano zinc oxide, Zn2: 10 grams per liter nano zinc oxide, Zn3: 5 grams per liter zinc oxide, Zn4: 10 grams per liter zinc oxide

می‌کند، اما برای عنصر روی اثر قابل‌ملاحظه‌ای در جلوگیری از کاهش رنگدانه‌ها در شرایط تنش خشکی مشاهده نکردند. بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات تنش و محلول‌پاشی عنصر روی و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر صفت میزان کارتنوئید معنی‌دار نبود. کارتنوئیدها یکی از رنگزده‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان بوده که گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرنوئید را تشکیل می‌دهند و به تخریب اکسیداتیو نیز حساس می‌باشند. در پژوهشی مشاهده شد که در سطوح متوسط (8 ds.m^{-1}) و بالای تنش شوری (12 ds.m^{-1}) تغییری در میزان کارتنوئید مشاهده نگردید. زیرا کارتنوئیدها می‌توانند تنش اکسیداتیو ایجادشده در اثر شوری را گیاه قهوه (*Coffea arabica*) کاهش دهند (Simkin et al., 2008). بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر قطع آبیاری و محلول‌پاشی در سطح یک درصد بر میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان پرولین تیمار قطع آبیاری در مرحله غلافدهی با ۳۱ درصد افزایش نسبت به شاهد به‌دست آمد و کمترین میزان پرولین مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۴). اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی بر میزان پرولین تأثیر معنی‌داری نبود (جدول ۲).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل a و b معنی‌دار بود (جدول ۲). براساس مقایسه میانگین، بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به شاهد بود. تنش در مرحله گلدهی و غلافدهی غلظت کلروفیل a را به ترتیب ۴/۲ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد کاهش داد که این میزان کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل ۳). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به شاهد و کمترین مقدار آن مربوط به قطع آبیاری در مرحله غلافدهی بود (شکل ۳)، به‌طوری‌که قطع آبیاری در مرحله غلافدهی باعث کاهش ۱۷/۴ درصدی کلروفیل b نسبت به شاهد گردید.

نتایج Maiti et al, (2000) نشان داد در شرایط قطع آبیاری، محتوای کلروفیل a, b و کارتنوئید در برگ‌های ماش کاهش می‌یابد. در تحقیق حاضر محلول‌پاشی عنصر روی تأثیر معنی‌داری در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی نشان نداد که با نتایج Thalooth et al, (2006) مطابقت دارد. این محققان نشان دادند که محلول‌پاشی با عنصر منیزیم به‌دلیل شرکت این عنصر در ساختار مولکول‌های کلروفیل a و b از کاهش این رنگدانه‌ها در اثر تنش خشکی تا حدود زیادی جلوگیری



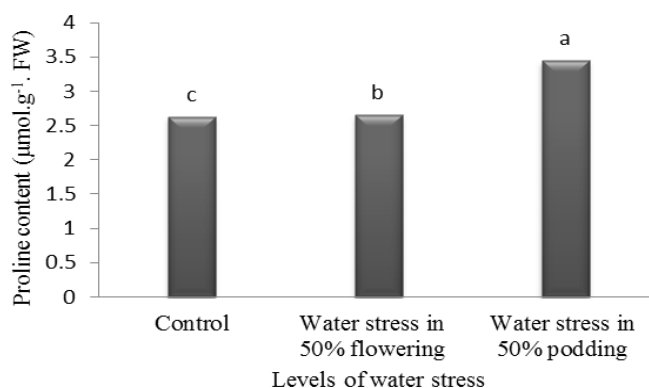
شکل ۳- اثر تنش خشکی بر غلظت کلروفیل *a* (چپ) و کلروفیل *b* (راست) در گیاه ماش

Fig. 3. Effect of water stress on concentration of chlorophyll *a* (Left) and *b* (Right) in mungbean plant

روی و منیزیم معنی دار نبود. پرولین اسید آمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم بوده و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول در طی تنش خشکی نقش مؤثری دارد.

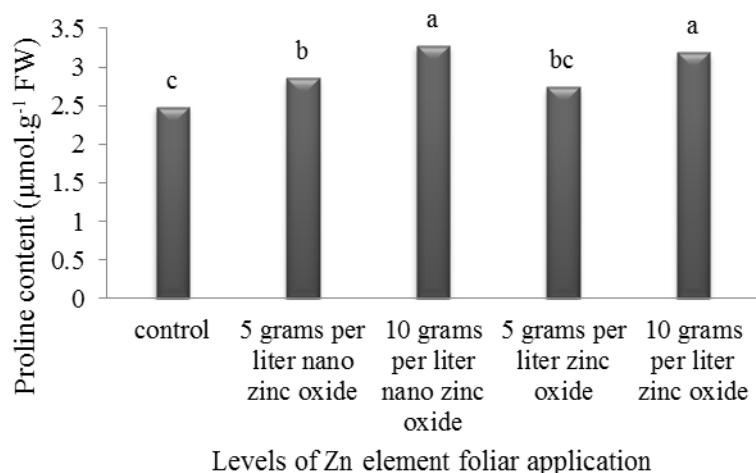
پرولین به طور کلی از دو مسیر عمده ساخته می شود: مسیر گلوتامات که آنزیم‌های آن در سیتوپلاسم قرار دارند و مسیر اورنتین که آنزیم‌های آن در میتوکندری واقع هستند. مسیر گلوتامات در گیاهان آلی اهمیت بیشتری دارد و به نظر می رسد آنزیم‌های کلیدی این مسیر به محلول پاشی روی و آهن واکنش مثبت نشان می دهند (Delaney *et al.*, 1993). با توجه به نتایج تحقیقات مختلف به نظر می رسد استفاده از محلول پاشی روی به صورت ذرات نانو از طریق جذب بهتر به وسیله گیاه به خصوص در شرایط تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین شده و از این طریق در تعدیل اثر تنش خشکی نقش مؤثری ایفا می کند.

نتایج نشان داد که در بین سطوح محلول پاشی، محلول پاشی با ۱۰ گرم نانو اکسید روی با افزایش ۳۲ درصدی نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را بر میزان پرولین دارا بود، هر چند این تیمار تفاوت معنی داری با محلول پاشی با ۱۰ گرم روی از نظر تأثیر بر این صفت نشان نداد (شکل ۵). همچنین بین تیمار محلول پاشی با پنج گرم روی و پنج گرم نانو اکسید روی از نظر آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. اما کاربرد پنج گرم نانو اکسید روی توانست به طور معنی داری میزان پرولین را نسبت به شاهد افزایش دهد. (Maiti *et al.*, 2000) گزارش کردند که تجمع پرولین یک مکانیسم سازگاری به تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش خشکی می باشد، به طوری که در شرایط تنش خشکی با باعث کاهش ازدست دهی آب گیاه می شود. در پژوهش (Thalooth *et al.*, 2006) بیشترین میزان پرولین ماش در شرایط تنش خشکی در مرحله غلاف دهی و تیمار محلول پاشی با پتاسیم به دست آمد. اما اثر دو عنصر



شکل ۴ - مقایسه میانگین اثر تنش بر پرولین برگ در گیاه ماش

Fig. 4. Effect of water stress on proline content of mungbean plant



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر محلول پاشی عنصر روی بر پرولین برگ در گیاه ماش

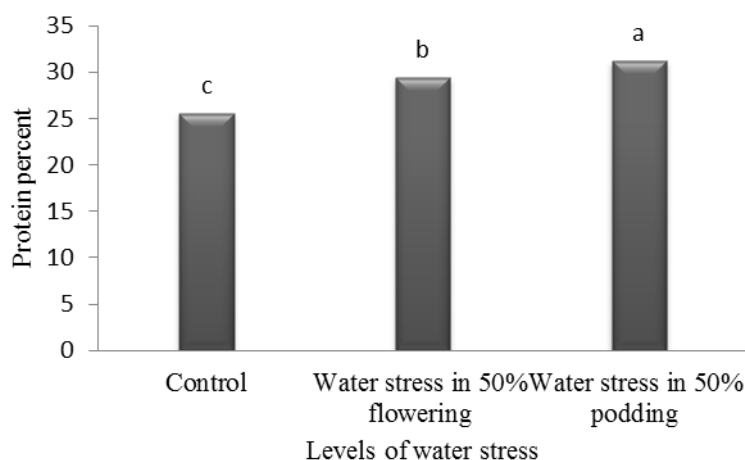
Zn0: شاهد، Zn1: ۵ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn2: ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn3: ۵ گرم در لیتر اکسید روی، Zn4: ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی

Fig. 5. Effect of foliar application of zinc element on proline content of mungbean plant

Zn0: Control, Zn1: 5 grams per liter nano zinc oxide, Zn2: 10 grams per liter nano zinc oxide, Zn3: 5 grams per liter zinc oxide, Zn4: 10 grams per liter zinc oxide

منجر به تغییر غلظت برخی از متابولیت‌ها می‌شود. از سوی دیگر میزان محلول‌های سازگار به خشکی نظیر قندها، قندهای الکلی، آمینواسیدهای ویژه نظیر پرولین، گلیسین و بتائین افزایش می‌یابد. افزایش پروتئین دانه در شرایط تنش به‌طور عمده مربوط به کاهش نسبت نشاسته به پروتئین در دانه به‌واسطه کاهش فتوسنتز خالص می‌باشد، نه افزایش مطلق در میزان پروتئین. در همین ارتباط گزارش شده است که فرآورده‌های تولید پروتئین به خشکی مقاوم‌تر هستند، بنابراین در شرایط تنش خشکی، افت تولید نشاسته چشمگیرتر است (Mcdonald, 1992).

اثر تنش کم‌آبیاری در سطح یک درصد بر درصد پروتئین دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). اما اثر محلول پاشی عنصر روی و اثر متقابل محلول پاشی در تنش تأثیر معنی‌داری بر درصد پروتئین دانه ماش نداشت. بیشترین درصد پروتئین در تیمار قطع آبیاری در مرحله غلاف‌دهی (با حدود ۲۲ درصد افزایش نسبت به شاهد) به‌دست آمد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون تنش) بود (شکل ۶). Zhao *et al*, (2004) بیان داشتند که تنش کم‌آبی در مرحله پُر کردن دانه محتوای پروتئین را افزایش می‌دهد. همین محققان بیان کردند که در طی دوره خشکی، انتقال مواد به‌علت کاهش آب قابل دسترس،

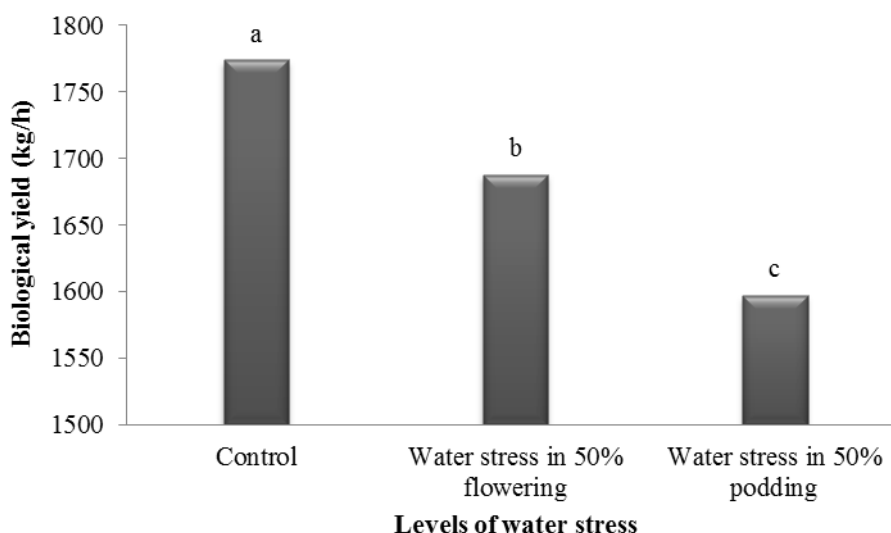


شکل ۶- اثر تنش خشکی بر درصد پروتئین دانه ماش

Fig. 6. Effect of water stress on protein percent of mungbean grain

نشان داده نشده است)، حاکی از این نکته است که مجموعه عواملی که باعث کاهش مواد فتوسنتزی و کربوهیدراتی و در نهایت عملکرد بیولوژیک می‌شوند، افزایش میزان پروتئین در گیاه را به دنبال خواهند داشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای قطع آبیاری و محلول‌پاشی بر زیست‌توده در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین زیست‌توده مربوط به تیمار شاهد (بدون تنش) و کمترین زیست‌توده مربوط به قطع آبیاری در مرحله غلافدهی و بعد از آن قطع آبیاری در مرحله گلدهی بود (شکل ۷).



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر زیست‌توده گیاه ماش
Fig. 7. Effect of water stress on biological yield of mungbean plant

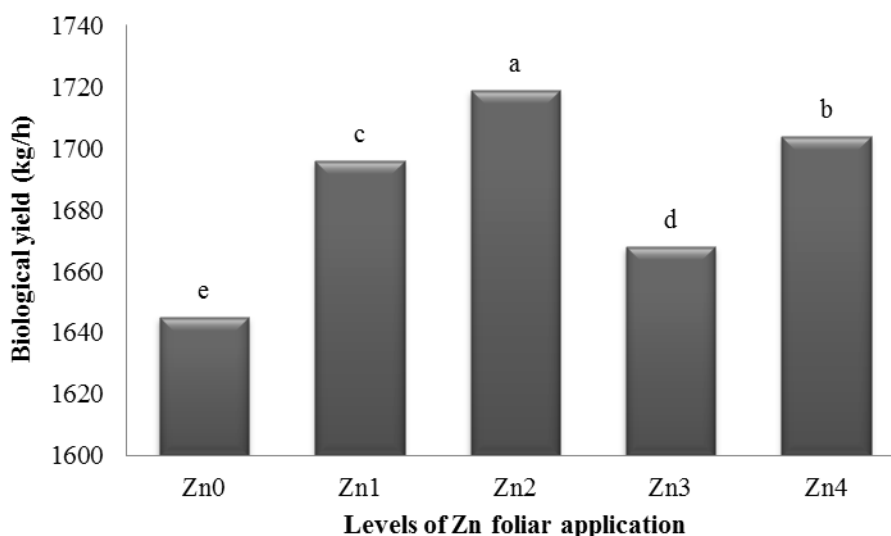
تنش در مرحله غلافدهی تأثیر بیشتری نسبت به تنش در گلدهی روی زیست‌توده داشت (شکل ۹). محلول‌پاشی با ۱۰ گرم نانو اکسید روی در شرایط بدون تنش (شاهد) و تنش در مرحله غلافدهی بیشترین زیست‌توده را دارا بود. همچنین در تیمار غلافدهی بین محلول‌پاشی پنج گرم اکسید روی و ۱۰ گرم اکسید روی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. Basole et al., (2005) به اثر مثبت محلول‌پاشی عنصر روی در جلوگیری از کاهش زیست‌توده در شرایط خشکی اشاره کرده‌اند. همین محققان اذعان کرده‌اند که افزایش عملکرد زیستی با مصرف عناصر ریزمغذی می‌تواند با افزایش فعالیت فتوسنتزی، تعداد شاخه فرعی، تعداد دانه در بوته و در کل افزایش ماده خشک در بوته مرتبط باشد.

از طرف دیگر در شرایط تنش خشکی، جذب و تثبیت دی اکسیدکربن بر اثر بسته‌شدن نسبی روزنه‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین، میزان کلی مواد پرورده برای پُرشدن دانه کاهش می‌یابد. در حالی که انتقال دوباره نیتروژن از برگ‌ها به دانه کاهش نمی‌یابد و این امر سبب افزایش درصد پروتئین دانه می‌شود (Ahmadi & Baiker, 2001). Thalooth et al., (2006) نیز گزارش کردند که محلول‌پاشی گیاه ماش به وسیله عنصر روی تأثیر کمتری نسبت به پتاسیم و منیزیم در افزایش میزان پروتئین دارد.

در تأیید نتایج سایر محققان همبستگی منفی بالا (۸۲ درصد) بین عملکرد بیولوژیک و درصد پروتئین (نتایج

در مطالعه‌ای مشخص شد اعمال تنش کم‌آبی در دو زمان شروع گلدهی و تشکیل نیام، باعث کاهش بیوماس در گیاه لوبیا چشم‌بلبلی گردید (Pak Mehr et al., 2011). همچنین نتایج آزمایش حاضر نشان داد در بین سطوح محلول‌پاشی بیشترین مقدار عملکرد بیولوژیک مربوط به محلول‌پاشی ۱۰ گرم نانو اکسید روی و بعد از آن محلول‌پاشی با ۱۰ گرم روی، محلول‌پاشی با پنج گرم نانو اکسید روی و پنج گرم اکسید روی بود (شکل ۸). گزارش شده است که محلول‌پاشی نانو کلات آهن در مرحله گلدهی نخود (*Cicer arietinum*) از طریق افزایش رشد، تعداد شاخه در بوته و همچنین تعداد دانه در بوته، موجبات تشکیل ماده خشک بیشتری را فراهم آورد (Hamzei et al., 2014).

بررسی اثر متقابل تنش در محلول‌پاشی نشان داد که زیست‌توده در پاسخ به کم‌آبیاری کاهش یافت، به‌طوری‌که

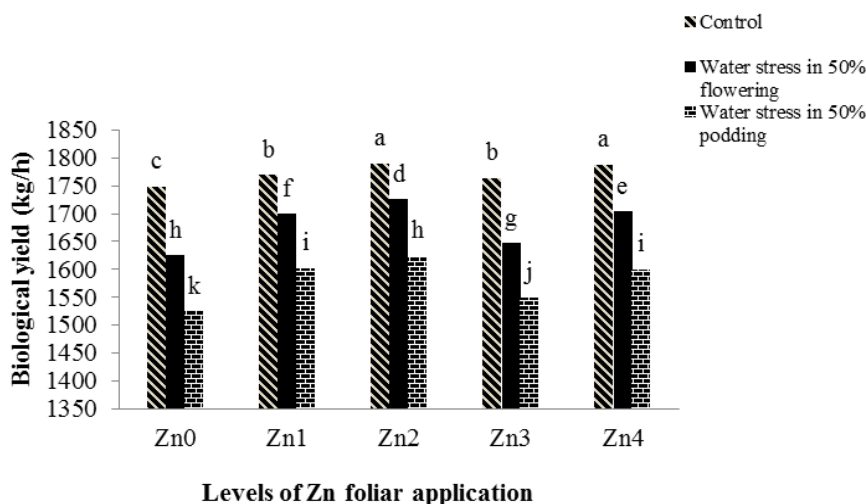


شکل ۸- مقایسه میانگین اثر محلول پاشی عنصر روی بر زیست توده گیاه ماش

Zn0: شاهد، Zn1: ۵ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn2: ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn3: ۵ گرم در لیتر اکسید روی، Zn4: ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی

Fig. 8. Effect of foliar application of zinc element on biological yield of mungbean plant

Zn0: Control, Zn1: 5 grams per liter nano zinc oxide, Zn2: 10 grams per liter nano zinc oxide, Zn3: 5 grams per liter zinc oxide, Zn4: 10 grams per liter zinc oxide



شکل ۹- اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی عنصر روی بر زیست توده گیاه ماش

Zn0: شاهد، Zn1: ۵ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn2: ۱۰ گرم در لیتر نانو اکسید روی، Zn3: ۵ گرم در لیتر اکسید روی، Zn4: ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی

Fig. 9. Interaction effects of water stress and foliar application of Zinc element on biomass of mungbean plant.

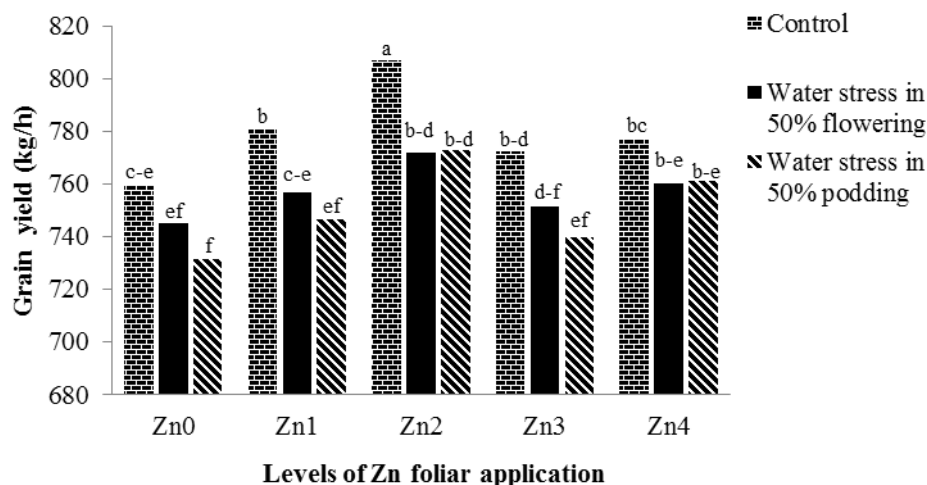
Zn0: Control, Zn1: 5 grams per liter nano zinc oxide, Zn2: 10 grams per liter nano zinc oxide, Zn3: 5 grams per liter zinc oxide, Zn4: 10 grams per liter zinc oxide

کاهش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد (داده‌ها نشان داده نشده است). همچنین محلول پاشی افزایش معنی دار عملکرد را در حالت تنش و عدم تنش به همراه داشت، اما تأثیر آن در حالت عدم تنش بیشتر بود، به طوری که کاربرد ۱۰ گرم

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر سطوح تنش خشکی و محلول پاشی و اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تیمار تنش در مرحله غلافدهی و گلدهی عملکرد

صفت قرار داشتند (شکل ۱۰). به‌طور کلی محلول‌پاشی در شرایط تنش توانست عملکرد ماش را معادل تیمار شاهد (عدم تنش و عدم محلول‌پاشی) افزایش دهد.

نانواکسید روی در شرایط عدم تنش افزایش معنی‌دار هفت درصدی عملکرد را نسبت به شاهد نشان داد، اما در حالت تنش در غلافدهی افزایش عملکرد نسبت به شاهد برابر با ۵/۴ درصد بود. محلول‌پاشی با ۱۰ گرم اکسید روی، پنج گرم نانواکسید روی و پنج گرم اکسید روی در مراتب بعدی از نظر تأثیر بر این



شکل ۱۰- اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی عنصر روی، بر عملکرد دانه گیاه ماش

Zn0: شاهد، Zn1: ۵ گرم در لیتر نانواکسید روی، Zn2: ۱۰ گرم در لیتر نانواکسید روی، Zn3: ۵ گرم در لیتر اکسید روی، Zn4: ۱۰ گرم در لیتر اکسید روی

Fig. 10. Interaction between water stress and foliar application of Zinc on grain yield of mungbean plant

Zn0: Control, Zn1: 5 grams per liter nano zinc oxide, Zn2: 10 grams per liter nano zinc oxide, Zn3: 5 grams per liter zinc oxide, Zn4: 10 grams per liter zinc oxide

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف گیاه ماش

Table 3. Correlation coefficients between different traits of mungbean plant

پروتئین Seed protein	کارتنوئید Carotenoid content	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	پروترین Proline	عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد دانه Grain yield	تعداد شاخه فرعی Number of branches	ارتفاع بوته Plant height
								1
							1	0.95**
						1	0.79**	0.78**
					1	0.80**	0.74**	0.69**
				1	0.49**	0.52**	0.72**	0.69**
			1	0.71**	0.79**	0.79**	0.86**	0.84**
		1	0.99**	0.72**	0.79**	0.79**	0.87**	0.85**
	1	-0.06 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.04 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	-0.02 ^{ns}
1	-0.05 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.18 ^{ns}	-0.82 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.19 ^{ns}

** و ^{ns} به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($P \leq 0.01$) و عدم معنی‌داری می‌باشد.

** and ^{ns}, significant at $P \leq 0.01$ and no significant, respectively.

نانواکسید روی در شرایط تنش و عدم تنش به دور از انتظار نمی باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه ماش تحت تأثیر تنش آبیاری در مرحله گلدهی و غلافدهی کاهش یافت، اما تأثیر تنش در مرحله گلدهی بر صفات ارتفاع بوته و تعداد شاخه فرعی بیشتر بود، در حالی که تنش در مرحله غلافدهی نسبت به تنش در مرحله گلدهی عملکرد بیولوژیک و دانه را بیشتر تحت تأثیر منفی خود قرار داد. محلول پاشی عنصر روی به طور معنی داری ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه را در شرایط تنش و عدم تنش بهبود بخشید. درصد پروتئین دانه و کلروفیل a و b تحت تأثیر محلول پاشی قرار نگرفت. محلول پاشی روی در شرایط عدم قطع آبیاری بالاترین پارامترهای رشدی را در گیاه ماش به ثبت رسانید. نتایج نشان داد که محلول پاشی روی، مخصوصاً ۱۰ گرم نانو اکسید روی به دلیل امتیازات ویژه ذرات نانو، اثر جبران کنندگی خوبی برای گیاه در برابر تنش خشکی ایجاد کرد و سبب افزایش معنی دار محتوای پروتئین و متعاقباً رشد و عملکرد در ماش گردید. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از محلول پاشی نانو ذرات اکسید روی در شرایط تنش و عدم تنش خشکی سبب بهبود صفات کیفی و رشد گیاه ماش می شود و در این بین محلول پاشی با ۱۰ گرم نانو اکسید روی تأثیر بیشتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد.

گزارش‌ها حاکی از آن است که محلول پاشی روی در سوبیا باعث افزایش طول دوره گلدهی و غلاف بندی و افزایش تعداد دانه در غلاف و افزایش سطح برگ و وزن خشک و در نتیجه افزایش عملکرد می گردد (Rose et al., 2002). در آزمایش ما نیز نتایج بررسی همبستگی نشان داد که صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، محتوای کلروفیل a و b و میزان پروتئین رابطه مثبت و معنی داری با عملکرد بیولوژیک و دانه داشت (جدول ۳). بنابراین هر عاملی که بر صفات مذکور تأثیر داشته باشد، در نهایت بر عملکرد گیاه نیز تأثیرگذار خواهد بود. عنصر روی به عنوان کوفاکتور آنزیم‌های آنتی اکسیدانت است و در شرایط تنش خشکی در ایجاد مقاومت گیاه نقش مهمی دارد (Welch, 2001). بر اساس نتایج به دست آمده نانو ذرات اکسید روی نسبت به روی معمولی تأثیر بیشتری بر عملکرد ماش داشته است که با یافته‌های (Jaberzadeh et al, 2010) در خصوص تأثیر مثبت نانو ذرات به خصوص در شرایط تنش خشکی در گندم مطابقت دارد. (Pandey et al, 2006) گزارش کردند که مصرف نانو ذرات اکسید روی از طریق افزایش سطح ایندول استیک اسید در ریشه نخود موجب افزایش رشد این گیاه گردید. با توجه به افزایش عملکرد گیاهان تحت تأثیر نانو ذرات عناصر مختلف، انتظار می رود سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو بسیار بیشتر از ذرات معمول باشد. بالا بودن کارایی جذب و سطح مخصوص ذرات نانو در مقایسه با ذرات معمول، اثرگذاری بیشتر این ذرات را می تواند توجیه کند (Monica & Cremonini, 2009). لذا افزایش عملکرد تحت تأثیر محلول پاشی روی به خصوص از نوع

منابع

- Ahmadi, A., and Baiker, D.R. 2001. Stomatal and nonstomatal limitations of photosynthesis under water stress conditions in wheat plant. Journal of Agricultural Science 31: 813-825. (In Persian with English Summary).
- Arnon, D.I. 1959. Photosynthesis by isolated chloroplast. IV. Central concept and comparison of three photochemical reactions. Biochemica et Biophysica Acta 20: 440-446.
- Basole, V.D., Deotale, R.D., Ilmulwar, S.R., Raut, S.S., and Kadwe, S.B. 2003. Effect of hormone and nutrients on morpho-physiological characters and yield of soybean. Journal of Soils and Crops 13: 135-139.
- Blum, A. 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential-are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? Australian Journal of Agricultural Research 56: 1159-1168.
- Delaney, A.J., Hu, C.A.A., Kishor, K.P.B., and Verma, D.P.S. 1993. Cloning ornithine-amino transferase DNA from *Vigna anconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. Journal of Biological Chemistry 268: 18673-18678.
- Davar Zareii, F., Roozbahani, A., and Hosnamidi, A. 2014. Evaluation the effect of water stress and foliar application of Fe nanoparticles on yield, yield components and oil percentage of safflower (*Carthamus tinctorious* L.). International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2(4): 1150-1159.
- Dumée, L.F., Lemoine, J.B., Ancel, A., Hameed, N., He, L., and Kong, L. 2015. Control of partial coalescence of self-assembled metal nano-particles across lyotropic liquid crystals templates towards long range meso-porous metal frameworks design. Nanomaterials 5: 1766-1781.

8. El-Fouly, M.M., Mobarak, Z.M., and Salama, Z.A. 2011. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. African Journal of Plant Science 5: 314-322.
9. Hamzei, J., Najjari, S., Sadeghi, F., and Seyedi, M. 2014. Effect of foliar application of nano-iron chelate and inoculation with mesorhizobium bacteria on root nodulation, growth and yield of chickpea under rainfed conditions. Iranian Journal of Pulses Research 5(2): 9-18. (In Persian with English Summary).
10. Harris, D., Rashid, A., Miraj, G., Arif, M., and Shah, H. 2007. Priming seeds with zinc sulphate solution increases yield of maize (*Zea mays* L.) on zinc-deficient soils. Field Crops Research 102: 119-127.
11. Hong, F., Zhou, J., and Liu, C. 2005. Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. Biological Trace Element Research 105: 269-79.
12. Jaberzadeh, A., Moaveni, P., Tohidi Moghadam, H.R., and Moradi, A. 2010. Effect of TiO₂ nanoparticles spraying on agronomic characteristics of wheat under condition drought stress. Journal of Crop Ecophysiology 2(4): 295-301. (In Persian with English Summary).
13. Jamsom, M., Galeshi, S., Pahlavani, M.H., and Zeinali, E. 2009. Evaluation of zinc foliar application on yield components, seed yield and seed quality of two soybean cultivars in summer cultivation. Journal of Plant Production 16(1): 17-28.
14. Kashiwagi, J., Krishnamurthy, L., Crouch, J., and R. Serraj. 2006. Variability of root length density and its contributions to seed yield in chickpea under terminal drought stress. Field Crop Research 95: 171-181.
15. Laalnia, A.A., Majnoon Hosseini, N., and Galostian, M. 2012. Effect of water stress on yield and yield components of mung bean at different grows (*Vigna radiata* L.). Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 95: 108-115. (In Persian with English Summary).
16. Liscano, J.F., Wilson, C.E., Norman, R.J., and Slaton, N.A. 2000. Zinc availability to rice from seven granular fertilizers. AAES Research Bulletin 963: 1-31.
17. Liu, X.M., Zhang, F.D., Zhang, S.Q., He, X.S., Fang, R., Feng, Z., and Wang, Y. 2005. Effects of nano-ferric oxide on the growth and nutrients absorption of peanut. Plant Nutrition Fertilizer Science 11:14-18.
18. Maiti, R.K., Moreno-Limon, S., and Wesche- Ebeling, P. 2000. Responses of some crops to various abiotic stress factors and its physiological and biochemical basis of resistances. Agricultural Reviews 21: 155-167.
19. Mazaherinia, S., Astaraei, A.R., Fotovat, A., and Monshi, A. 2010. Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. World Applied Sciences 7: 36-40.
20. Mcdonald, G.K. 1992. Effect of nitrogen fertilizer on growth grain yield and grain protein concentration of wheat. Crop Science 17: 791-793.
21. Monica, R.C., and Cremonini, R. 2009. Nanoparticles and higher plants. Caryologia 62: 161-165.
22. Pak Mehr, A., Rastgoo, M., Shekari, F., Saba, J., Vazayefi, M., and Zangani, A. 2011. Effect of salicylic acid priming on yield and yield components of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) under water deficit at reproductive stage. Iranian Journal of Pulses Research 2(1): 53-64. (In Persian with English Summary).
23. Pandey, A.C., Sanjay, S.S., and Yadav, R.S. 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. Journal of Experience Nanoscience 5: 488-497.
24. Pandey, N., Pathak, G.C., and Sharma, C.P. 2006. Zinc is critically required for pollen function and fertilization in lentil. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 20: 89-96.
25. Pirzad, A.R., Tousi, P., and Darvishzadeh, R. 2013. Effect of Fe and Zn foliar application on plant characteristics and essential oil content of anise (*Pimpinella anisum* L.). Iranian Journal of Crop Sciences 15(1): 12 -23. (In Persian with English Summary).
26. Prasad, T.N.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T.S., Sajanalal, P.R., and Pradeep, T. 2012. Effect of manoscule zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. Journal of Plant Nutrition 35: 905-927.
27. Rose, L.A., Feltion, W.L., and Banks, L.W. 2002. Responses of four soybean variations to foliar zinc fertilizer. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry 21: 236-240.
28. Salehi, M., and Tamaskoni, F. 2008. Effect Nanocid at seed treatment on germination and seedling growth of wheat under salinity. Abstract of the First National Conference of Seed Science and Technology Iran. P: 358. (In Persian with English Summary).
29. Sehrawat, N., Jaiwal, P.K., Yadav, M., Bhat, K.V., and Sairam, R.K. 2013. Salinity stress restraining mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) production: gateway for genetic improvement. International Journal of Agricultural Crop Science 6: 505-509.
30. Scrinis, G., and Lyons, K. 2007. The emerging nano-corporate paradigm: nanotechnology and the transformation of nature, food and agri-food systems. International Journal of Sociology, Food Agriculture 15: 22-44.
31. Shailesh, K.D., Pramod, M., Rajashri, K., and Anand, K. 2013. Effect of nanoparticles suspension on the growth of mung (*Vigna radiata*) seedlings by foliar spray method. Nanotechnology Development 3: 1-5.

32. Silva, D.D., Kane, M.E., and Beeson, R.C. 2012. Changes in root and shoot growth and biomass partition resulting from different irrigation intervals for *Ligustrum japonicum* Thunb. Horticulture Science 47: (11): 1634-1640.
33. Simkin, A.J., Moreau, H., Kuntz, M., Pagny, G., Lin, C., Tanksley, S., and McCarthy, J. 2008. An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. Journal of Plant Physiology 165(10): 1087-106.
34. Swiader, J.M. 2000. Micronutrient fertilizer recommendation for vegetable crop. Horticulture Facts p: 21-35.
35. Thalooth, A.T., Tawfik, M.M., and Magda Mohamad, H. 2006. A comparative study on the effect of foliar application of zinc, potassium and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of mungbean plants grown under water stress conditions. Bulletin of Egypt, World Journal of Agricultural Sciences 2(1): 37-46.
36. Thomas, R., Robertson, M.J., Fukai, S., and Peoples, M.B. 2003. The effect of timing and severity of water deficit on growth development, yield accumulation and nitrogen fixation of Mung bean. Field Crop Research 86: 67-80.
37. Umebese, C.E., Olatimilehin, T.O., and Ogunsusi, T.A. 2009. Salicylic acid protects nitrate reductase activity, growth and proline in amaranth and tomato plants during water deficit. American Journal of Agriculture and Biology Science 4(3): 224-229.
38. Welch, R.M. 2001. Impact of mineral nutrients in plants on human nutrition on a worldwide scale. Plant Nutrition 92: 284-285.
39. Yang, F., Hong, F., and You, W. 2006. Influences of nanoanatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research 110: 179-90.
40. Zhao, C., Liu, L., Wang, J., Huang, W., Song, X., and Li, C. 2004. Predicting grain protein content of winter wheat using remote sensing data based on nitrogen status and water stress. International Journal of Applied Earth Observation and Geo- information 7(1): 1-9.

The effect of foliar application of Zinc oxide in common and nanoparticles forms on some growth and quality traits of Mungbean (*Vigna radiata* L.) under drought stress conditions

Makarian^{1*}, H., Shojaei², H., Damavandi³, A., Nasiri Dehsorkhi⁴, A. & Akhyani⁵, A.

1. Associate Professor of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology
2. MSc. Student, Faculty of Agriculture, Damghan Branch, Islamic Azad University
3. MSc. in Agronomy, Faculty of Agriculture, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
4. MSc. Student of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology
5. Assistant Professor in Soil Science, Shahrood (Semnan), Agricultural Research Center

Received: 14 December 2015

Accepted: 15 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.51644

Introduction

Mungbean (*Vigna radiata* L.) is an important, environment friendly staple food legume with rich source of proteins, vitamins, and minerals for human. Drought stress is one of the most adverse factors of Mungbean growth and productivity. Proper nutrition under stress conditions could partly help the plant to tolerate different stresses. Zinc plays a key role in the synthesis of proteins, DNA, and RNA. By consumption of zinc, it is possible to improve the growth status of the plant in stress conditions. Various studies were carried out to understand the effect of nanoparticles on the growth of plants. For example, Hong *et al.* (2005) and Yang *et al.* (2006) reported that a proper concentration of nano-TiO₂ was found to improve the growth of spinach by promoting photosynthesis and nitrogen metabolism. Nano-particles have high reactivity because of more specific surface area, more density of reactive areas, or increased reactivity of these areas on the particle surfaces. Thus, the objective of this research was to investigate the effect of foliar application of ZnO₂ in common and nanoparticles forms on growth traits and yield of mungbean (*V. radiata* L.) under drought stress condition.

Materials & Methods

Experiment was carried out as a split plot in complete randomized block design with four replications in Shahrood Agricultural Research Center during the growing season of 2011-2012. Water stress at three levels (control, cutting of irrigation in 50% flowering and 50% pod setting stages) were assigned as main plots and zinc oxide foliar application in five levels (control, 5 and 10 g l⁻¹ nano sized zinc oxide and 5 and 10 g l⁻¹ non-nano-scale zinc oxide) were randomized in sub-plots. According to soil analysis experiment results, the soil was loam and having pH=7.8; EC=1.5 (dS/m); 0.4% of organic carbon; 0.08% N; 10, 280 and 1.1 ppm of P, K and Zn respectively. Zinc spraying on leaves was done two times at 40 and 55 day after planting. The plots were 24 m² with 6 sowing rows, 4 m long. Seeds were placed at 3 to 5 cm depth in each row. Irrigation operations were performed until the emergence once every 7 days. Afterwards at 50% flowering and 50% of pod formation stages, irrigation was disrupted. Intended traits were measured in the end of crop season. All data collected were subjected of analysis of variance (ANOVA) using MSTATC software procedure and the significant treatment means were separated using Duncan's multiple range test.

*Corresponding Author: h.makarian@yahoo.com, Mobile: 09153598404

Results & Discussion

Results showed that the drought stress at flowering and podding stages decreased the height, number of branches, chlorophyll a, b, grain and biological yield in comparison to control treatment significantly, but the effect of drought stress at podding stage was more than drought stress at flowering. Water deficit in the plant disrupts many cellular and whole plant functions, having a negative impact on plant growth and reproduction. Thus, it is one of the most yield limiting factors as it affects growth and development. Seed protein and proline content increased under drought stress significantly, while there was no significant difference for carotenoid content between treatments. Foliar application of Zinc in common and nanoparticles forms increased the height, proline content, grain and biological yield in comparison to control treatment significantly. The results showed that foliar application of 10 grams per liter nano zinc oxide in normal and drought stress at flowering and podding stages increased the grain yield by 6.6, 3.6 and 5.4 percent in comparison to no spraying treatments respectively. The maximum effects of Zinc on increasing of traits was found by foliar application of 10 grams per liter nano zinc oxide, 10 grams per liter zinc oxide, 5 grams per liter nano zinc oxide and 5 grams per liter zinc oxide respectively. With the completion of Micro-Nutrients consumption through spraying, the growth state of plant can be improved in stress conditions. Liu *et al.* (2005) reported that nano-Fe₂O₃ promoted the growth and photosynthesis of peanut. Prasad *et al.* (2012) reported that nano-scale zinc oxide particles increased stem and root growth and pod yield of peanut as compared with ZnSO₄ application. Reduction of particle size results in increased number of particles per unit of weight and specific surface area of a fertilizer that should increase contact of fertilizer with plant leading to increase in nutrient uptake. Nanoparticles have high reactivity because of more specific surface area, more density of reactive areas, or increased reactivity of these areas on the particle surfaces. These features in nano-scale simplify their absorption in plants.

Conclusion

Mungbean growth characteristics could positively influence by foliar application of zinc oxide as nano and micro-particles in drought stress conditions. But, the effects of nano-scale zinc oxide particles on plant growth and yield was more in comparison to micro particles zinc oxide in stress and non-stressed conditions.

Key words: Grain yield, Proline content, Water deficit stress

بررسی بیوانفورماتیکی و جداسازی پروموتر بتافازئولین از لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)

ادریس چوپانی^۱، خدیجه باقری^{۲*} و بهرام ملکی زنجانی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۲- استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۳- دانشیار بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۰۴

چکیده

جهت اجتناب از مضرات پروموتورهای عمومی، شناسایی و جداسازی پروموتورهای قوی و اختصاصی بافت امری بسیار مهم و ضروری در مهندسی ژنتیک است. یکی از پروموتورهای اختصاصی و قوی بذری، پروموتر بتافازئولین لوبیا می‌باشد که بیان حدود ۵۰ درصد پروتئین‌های بذر لوبیا را کنترل می‌کند. استفاده از این پروموتر برای بهینه‌کردن تولید پروتئین‌های بذری در لوبیا و گیاهان دیگر و همچنین تولید پروتئین‌های نوترکیب مفید خواهد بود. آنالیز بیوانفورماتیکی پروموتورها برای پیشگویی در مورد قدرت و ضعف آن‌ها، جداسازی صحیح و همچنین سنتز پروموتورهای مصنوعی کمک خواهد کرد. ابتدا به‌وسیله نرم‌افزارهای آنالیز پروموتر توالی‌های پروموتوری بتافازئولین گیاه لوبیا مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که بیش از ۲۰ فاکتور سیس از جمله مهم‌ترین آن‌ها E-box، G-box، فاکتور ACGTSEED2.RY، جعبه لگومین، جعبه اندوسپرم و... در توالی پروموتر بتافازئولین وجود دارد که در بیان بالا و اختصاصیت آن نقش دارند. با توجه به نتایج آنالیز بیوانفورماتیکی پرایمرهای اختصاصی این پروموتر طراحی شد و با استفاده از آن‌ها توالی پروموتر موردنظر از DNA ژنومی لوبیا تکثیر و با توجه به اندازه قطعه تکثیرشده، صحت آن مورد تأیید قرار گرفت. در مرحله بعدی توالی پروموتر موردنظر در ناقل pTZ57R/T کلون شد و با استفاده از واکنش‌های PCR و هضم آنزیمی مورد تأیید قرار گرفت. از آنجایی که هدف از این تحقیق جداسازی پروموتر اختصاصی بذر بتافازئولین از لوبیا و استفاده از آن در تهیه سازه‌های ژنی می‌باشد، لذا قطعه موردنظر در ناقل بیانی گیاهی pBI121 ساب کلون شد و نتایج آن با هضم آنزیمی و PCR تأیید شد.

واژه‌های کلیدی: پروموتر اختصاصی، پروموتر بذری، آنالیز بیوانفورماتیکی

مقدمه

حذف هرگونه اثر منفی روی رشد گیاه و افزایش عملکرد اقتصادی خیلی مفیدند (Haghand et al., 2009). لذا شناسایی پروموتورهای قوی و درعین حال اختصاصی یک امر بسیار مهم در مهندسی ژنتیک امروزی است. یکی از پروموتورهای اختصاصی و قوی بذری، بتافازئولین می‌باشد (Van der geest & Hall., 1997).

فازئولین اسم گروهی از پلی‌پپتیدها است که گلیکوپروتئین‌های اصلی ذخیره‌ای در بذرهای لوبیا هستند (*P. vulgaris* L.) و در حدود ۵۰ درصد از پروتئین‌های بذرهای رسیده لوبیا را تشکیل می‌دهد. ژن‌های مربوط به این پروتئین‌ها تحت کنترل پروموتر فازئولین هستند و بیان بالای ژن‌های تحت کنترل نشان می‌دهد که پروموتورهای قوی دارند (Ma & Bliss, 1978). مطالعاتی که بروی لوبیا و توتون تراریخت انجام گرفته نشان داده که پروموتر بتافازئولین

پروموتورهای عمومی مثل CaMV 35S که معمولاً در مهندسی ژنتیک گیاهی به‌طور وسیع استفاده می‌شوند، به‌طور پیوسته ژن‌های پایین‌دست خود را در تمام دوره زندگی گیاه و در همه بافت بیان می‌کنند که اگر ترانس ژن موردنظر در زمان و بافت نادرستی از گیاه بیان شود، احتمالاً نتایج غیرقابل‌انتظاری در رشدونمو گیاه حاصل می‌شود (Murn & Rask, 1995). اما پروموتورهای اختصاصی بافت، بیان ژن را در بافت یا مرحله نمو خاصی کنترل می‌کند و برای تجمع محصول تراریخته در اندام‌های معین مانند بذور و میوه‌ها و

* نویسنده مسئول: زنجان، کیلومتر ۶ جاده تبریز، دانشگاه زنجان، گروه زراعت و

اصلاح نباتات، تلفن: ۰۲۴۳۳۰۵۲۷۱۷، همراه: ۰۹۱۲۷۴۲۲۹۸۸

bagheri.khadijeh@znu.ac.ir

با توجه به مزیت‌های گفته‌شده برای پروموتورهای اختصاصی بذر، در این پژوهش بررسی ناحیه پروموتوری ژن بتافازئولین و جداسازی این پروموتور از گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) و کلونینگ آن در وکتور گیاهی pBI121 و آماده سازی بخش پروموتوری یک سازه ژنی مدنظر بوده است که می‌تواند برای تولید پروتئین‌های نوترکیب در بذر گیاه لوبیا مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از نمونه گیاهی لوبیا (*P. vulgaris*) رقم صیاد استفاده شد و *Xl-blue* سویه‌ای از باکتری *E. coli* است که از شرکت سیناژن تهیه و در تمام مراحل کار از این سویه برای تکثیر و نگهداری پلاسمیدهای اولیه و پلاسمیدهای نوترکیب استفاده شد. پلاسمید pTZ57R/T به‌عنوان ناقل اولیه از شرکت فرمنتاز تهیه شد و از آن برای همسانه‌سازی قطعه موردنظر بهره گرفته شد. این پلاسمید دارای ژن مقاومت به آمپی‌سیلین و بخش α ژن بتاگالاکتوزیداز (*lacZ*) به‌عنوان نشانگرهای انتخابی می‌باشد. از پلاسمید دوگانه pBI121 به‌عنوان ناقل بیانی گیاهی استفاده گردید. توالی کامل پلاسمید pBI121 به طول ۱۴۷۵۸bp و شماره بازبانی AF485783 در بانک اطلاعاتی NCBI موجود می‌باشد.

پس از انتخاب ژن بتافازئولین از گیاه لوبیا توالی کامل CDS با شماره بازبانی j01263 از بانک اطلاعاتی NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/>) استخراج گردید. سپس ۱۴۷۰ جفت باز از بالادست کدون شروع (AUG) با شماره دسترسی j01263 به‌عنوان پروموتور بتافازئولین در نظر گرفته شد. به‌منظور آنالیز پروموتور از سایت PlantPAN (<http://plantpan2.itsps.ncku.edu.tw/>) استفاده شد. سپس فاکتورهای رونویسی موجود در پروموتورها استخراج و کارکرد آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. این سایت علاوه‌بر مشخص کردن فاکتورهای رونویسی موجود در پروموتور، توانایی تشخیص نواحی تکراری و CpNpGIslands و همچنین سایت‌های مورد هدف miRNA را دارد. همچنین با استفاده از سایت <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html> Plant CARE (ml) موتیف‌های موجود در این پروموتور در سایر گونه‌های گیاهی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سپس برای جداسازی ناحیه پروموتوری موردنظر با استفاده از اطلاعات موجود در NCBI پرایمرهای اختصاصی رفت و برگشتی با توالی 5'-TAAAAGCTTGAATTCATTGTACTCCAG-3' و برگشت با توالی 5'-GGGTCTAGAGAAAGAAGTGAGTGATATTAG

تنظیم‌کننده خیلی قوی و اختصاصی بذر است، لذا در بافت‌های رویشی بیان نمی‌شود (Hall et al., 1999).

بیان اختصاصی ترانس ژن‌ها در بذر گیاهان کاربرد زیادی دارد که شامل بهبود کیفیت غذایی دانه (Keeler et al., 1997; Shintani & DellaPenna, 1998; Goto et al., 1999; Ye et al., 2000)، کیفیت دانه‌های آسیاب‌شده (Barro et al., 1997) و تولید ترکیبات صنعتی و دارویی (Cahoon & Shanklin, 2000) می‌باشد.

(De Jaeger et al., 2002) با بکارگیری پروموتور بتافازئولین باعث افزایش بیان ScFv در دانه‌های تراریخته آرابیدوپسیس شد و آن‌ها مشاهده کردند زمانی که ScFv تحت کنترل پروموتور عمومی 35S می‌باشد، تنها حدود یک درصد از کل پروتئین‌های بذری در بذر آرابیدوپسیس بیان می‌شود، اما زمانی که پروموتور اختصاصی بتافازئولین جایگزین شد، باعث افزایش میزان بیان ScFv به ۳۶/۵ درصد از کل پروتئین‌های بذری شد.

(Van ooyen et al., 2006) لیست آنزیم‌ها و پروتئین‌های نوترکیب مهم که تحت پتنت ایالات متحده آمریکا هستند را منتشر کردند. اکثر این پروتئین‌ها در بذور گیاهان تراریخته بیان می‌شدند. در این لیست به آنزیم لیپواوکسیژناز (LOX-3) نیز اشاره شده که این آنزیم تحت پروموتور قوی بتافازئولین قرار دارد و بیان بالایی را در بذور ترا ریخته آرابیدوپسیس نشان داده بود.

(Van Droogenbroeck et al., 2007) از این پروموتور برای بیان و تجمع زنجیره Scfc-fv آنتی‌بادی در دانه‌های تراریخت آرابیدوپسیس استفاده کردند و میزان بیان ۱۴ درصد از کل پروتئین محلول را گزارش کردند.

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز پروموتور بتافازئولین با استفاده از منابع مختلف نشان داد که فاکتور ACGTSEED2 که به طور منحصربه‌فرد در پروموتور بتافازئولین وجود دارد، نقش عمده‌ای را در بیان اختصاصی این ژن در دانه‌های لوبیا دارد (Thomas, 1993). این فاکتور در نزدیکی نقطه شروع رونویسی قرار دارد و محل اتصال پروتئین تنظیمی MAT1 (ROM1) است که نقش این پروتئین تنظیم منفی است. این پروتئین در صورت اتصال به پروتئین تنظیمی PvALF تبدیل به یک تنظیم‌کننده مثبت و فعال‌کننده بیان ژن بتافازئولین خواهد شد. با اتصال پروتئین تنظیمی ROM1 به توالی ACGTSEED2 از بیان ژن بتافازئولین در سلول‌های غیرذخیره‌ای اپیدرمی و پروکامبیوم ممانعت به‌عمل می‌آید، بنابراین این فاکتور در اختصاصی بودن مکانی بیان ژن بتافازئولین مؤثر است (Chern et al., 1996).

در مرحله بعد بذره‌های استریل لوبیا در محیط MS کشت داده شد که پس از دو هفته برگ‌های آن ظاهر شدند. برگ‌های ظاهر شده فریز و تا زمان استخراج DNA در ۸۰- نگهداری شدند. DNA ژنومی لوبیا به روش CTAB استخراج شد. برای تکثیر قطعه مورد نظر واکنش PCR با مواد و غلظت‌ها مطابق با جدول ۱ و برنامه مطابق با جدول ۲ انجام شد.

AGGT-3' با کمک نرم‌افزار primer 3 و gene runner و vector NT طراحی شد. قابل ذکر است که در پرایمر رفت جایگاه برش آنزیم *HindIII* و در پرایمر برگشت جایگاه برش آنزیم *XbaI* متناسب با جایگاه‌های برشی موجود در وکتور pBI121 اضافه شد.

جدول ۱- مواد مورد نیاز برای تهیه ۲۵ µl محلول واکنش PCR

Table 1. Materials required to prepare 25 µl of PCR reaction Solution

نام ماده Material	غلظت در واکنش Concentration in the reaction
PCR buffer	1X
dNTP	0.2 mM
MgCl ₂	1.5 mM
Taq DNA Polymerase	1U
Genomic DNA	1 µL
Forward primer	10 pM
Reverse primer	10 pM
H ₂ O (D.W)	Up to volume
Total volume	L µ25

جدول ۲- چرخه‌های دمایی مراحل مختلف PCR

Table 2. PCR thermal cycle stages

چرخه Cycle	واکنش Reaction	دما Temperature	زمان Time
1	Initial denaturation	94°C	4'
2(30 X)	denaturation	94°C	40"
	Annealing	60.4°C	40"
	Extension	72°C	1':20"
3	Final Extension	72°C	10'
4	Finalhold	4°C	-

آنزیم‌های برشی *HindIII* و *XbaI* از این وکتور جدا شد و نیز قطعه پروموتور بتافازئولین با طول ۱۴۷۰ bp از وکتور pTZ57R/T جداسازی و در وکتور بیانی pBI121 ساب‌کلون گردید و صحت کلونینگ با استفاده از آنزیم‌های *Hind* و *XbaI* *III* توسط واکنش هضم آنزیمی و همچنین واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده تأیید گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از سایت plant pan (شکل ۱) موقعیت موتیف‌های موجود در توالی مورد نظر را نشان داد که از جمله آن‌ها می‌توان به موتیف‌های زیر که نقش‌های آن‌ها در پژوهش‌های قبلی نیز تأیید شده است اشاره کرد.

در مرحله بعد استخراج محصول PCR از ژل با استفاده از کیت شرکت کیاژن انجام گردید. برای اتصال قطعه مورد نظر در پلاسمید pTZ57R/T واکنش اتصال طبق دستورالعمل کیت T/A کلونینگ شرکت فرمنتاز ابتدا برای مدت ۳ تا ۲ ساعت در دمای اتاق و سپس به مدت یک شب در دمای ۴°C انجام شد و عمل تراریختی با تهیه سلول‌های مستعد از باکتری *E. coli* سویه *XL1-Blue* انجام شد. سپس استخراج پلاسمید از باکتری‌های تراریخته صورت پذیرفت و وجود قطعه مورد نظر با استفاده از PCR و هضم آنزیمی تأیید شد. به منظور اطمینان از مراحل کار و مقایسه توالی مورد نظر، قطعه به دست آمده برای توالی‌یابی به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید و توالی به دست آمده با توالی‌های موجود در NCBI مقایسه شد. در مرحله بعدی برای ساب‌کلونینگ این پروموتور در وکتور گیاهی pBI121 ابتدا پروموتور عمومی ۳۵S با اندازه ۸۳۵ bp با

موتیف RY که به جعبه لگومین هم معروف است، در پروموتورهای بذری لگوم‌ها حالت حفاظت‌شده دارد و در پروموتور فازولین به تعداد پنج نسخه وجود دارد. حذف این موتیف منجر به کاهش شدید در بیان ژن تحت کنترل شده و تنها ۱۱٫۶ درصد فعالیت پروموتور باقی می‌ماند. برای فعالیت بهینه پروموتور وجود این موتیف ضروری است و در بیان بالای ژن تحت کنترل نقش دارد (Baumlein et al., 1992).

وجود سه جعبه TATA به‌عنوان هسته پروموتور نشان دهنده قوی بودن پروموتور و توان بالای آن در بیان ژن‌ها می‌باشد. علاوه بر این طبق گزارش Li et al, (1998) ساختار دورانی نوکلئوزم‌ها که در ناحیه حاوی جعبه TATA در پروموتور بتافازولین تشکیل می‌شود باعث جلوگیری از بیان ژن‌های تحت کنترل در بافت برگ می‌شود، در حالی که در بافت بذری این ساختار باز می‌شود و اجازه شروع نسخه‌برداری را می‌دهد.

```

1 GAATTCATTGTACTCCCAGTATCATTATAGTGAAAGTTTTGGCTCTCTCGCCGGTGGTTT
61 TTTACCTCTATTTAAAGGGGTTTTCCACCTTAAATTTCTGGTATCATTCTCACTTTACTT
121 GTTACTTTAATTTCTCATAATCTTTGGTTGAAATTATCACGCTTCCGCACACGATATCCC
181 TACAAATTTATTATTTGTTAAACATTTTCAAACCGCATAAAATTTTATGAAGTCCCGTCT
241 ATCTTTAATGTAGTCTAACATTTTCATATTGAAATATATAATTTACTTAATTTTAGCGTT
301 GGTAGAAAGCATAAAGATTTAGTCTTATTCTTCTTCAATAAATGTTTAATATACAATAT
361 AAACAAATTTCTTTACCTTAAGAAGGATTTCCCATTTTATATTTTAAAAATATATTTATCA
421 AATATTTTTCAACCACGTAAATCTCATAATAATAAGTTGTTTCAAAAAGTAATAAAATTTA
481 ACTCCATAATTTTTTTTATTCGACTGATCTTAAAGCAACACCCAGTGACACAAGTAGCCAT
541 TTTTTTCTTTGAATAAAAAAATCCAATTATCATTGTATTTTTTTTATACAATCAAAATTT
601 CACCAAAACAATCATTTGTGGTATTTCTGAAGCAAGTCATGTTATGCAAAATCTATAATT
661 CCCATTTGACACTACGGAAGTAACTGAAGATCTGCTTTTACATGCGAGACACATCTTCTA
721 AAGTAATTTTAATAATAGTTACTATATTCAAGATTTTCATATATCAAATACTCAATATTAC
781 TTCTAAAAAATTAATTAGATATAATTAATAATTTACTTTTTTAAATTTAAGTTTAATTGT
841 TGAATTTGTGACTATTGATTTATTATTCTACTATGTTTAAATTGTTTTATAGATAGTTTA
901 AAGTAAATATAAGTAATGTAGTAGAGTGTTAGAGTGTTACCCTAAACCATAAACTATAAC
961 ATTTATGGTGGACTAATTTTCATATATTTCTTATTGCTTTTACCTTTTCTTGGTATGTAA
1021 GTCCGTAAGTAAATACAGTGGGTTGCCATGGCACTCTGTGGTCTTTTGGTTCATGCAT
1081 GGGTCTTGCGCAAGAAAAAGACAAAGAACAAAGAAAAAGACAAAACAGAGAGACAAAAC
1141 GCAATCACACAACCAACTCAAATTAGTCACTGGCTGATCAAGATCGCCGCGTC9CA8TG7TAT6
1201 5GTCTAAATGC4CA3TGCAAAGCA2AA1CACGTGCTTAAACATGCATTTAAATGGCTCA11CC10CT9
1261 CAAC11CCACAC10ACAA9ACAC8ATTGCCTTTT7CT6CAT5CATCACCACAAC4CAC3CT2GTATATAT1
1321 TCATT11CT10CT9CCGCCACCTCA8ATTCT7CACTTCA6ACAC5AGGTC4AA3CCT2GCATAT1GTGTG
1381 TCATCCCATGC11CCAA10ATCTC9CATGCATG8TTCCAACCACCTTCTCTCT7TATATAATACCTA6
1441 TAAATA11CCTC10TAAT9TCAC8TCA7CATTCTTTC
    
```

شکل ۱- توالی پروموتور اختصاصی بتافازولین

شماره‌ها موتیف‌های موجود در پروموتور را نشان می‌دهد. موتیف‌های مشابه که در پروموتور تکرار شده‌اند، دارای اعداد مشابه می‌باشند.

Fig. 1. Beta phaseolin specific promoter sequence

Numbers show motifs in the promoter, similar motifs in the promoter have the same numbers:

1. TATA box; 2. G-box; 3. OPAQUE 2; 4. endosperm box; 5. E-SITE; 6. Vicilin box; 7. CCAAAT box; 8. B box; 9. RY box or endosperm box; 10. ACGTSEED2 box; 11. OSE2ROOTNODULE box

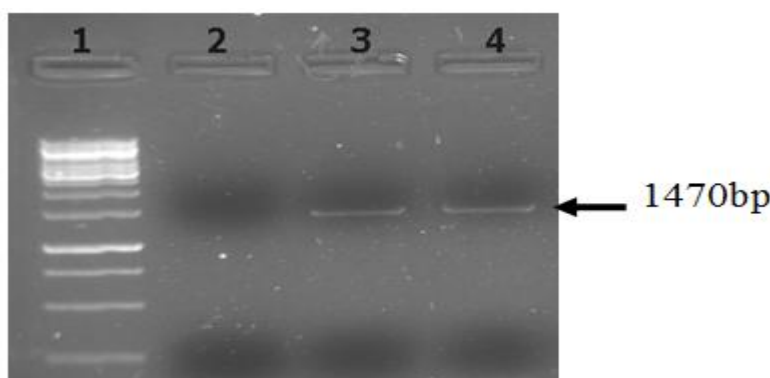
وجود این موتیف به احتمال زیاد در بیان ژن‌ها در آندوسپرم نقش دارد.

جعبه Vicilin با توالی CCAAAT در پروموتورهای بذری زیادی وجود دارد. این جعبه به عنوان یک فاکتور عمومی برای فعال سازی رونویسی در یوکاریوت‌ها عمل می‌کند، اما گفته شده است که به عنوان یک تنظیم کننده اختصاصی بافت نیز نقش دارد و در پروموتور بتافازئولین وجود این جعبه موجب می‌شود که بیان ژن تحت کنترل در جنین بذر بالا و یکنواخت باشد (Chandrasekharan *et al.*, 2003).

جعبه B با توالی مرکزی و مهم A/TCNAACAC در پروموتور پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر حالت حفاظت شده دارد و در بیان اختصاصی ژن تحت کنترل در بذر نقش دارد و یک فاکتور سیس پاسخ دهنده به آبسزیک اسید است. این جعبه محل اتصال پروتئین‌های گیاهی Myb است (Ezcurra *et al.*, 1999).

توالی G-box یکی از مهم ترین فاکتورهای سیس محسوب می‌شود. این فاکتور عامل پاسخ دهنده به آبسزیک اسید است. با حذف G-box، فعالیت پروموتور به ۲۶ درصد کاهش پیدا می‌کند. سایت E نقش کمکی و سینرژیک با G-box دارد. موتاسیون در این سایت موجب کاهش فعالیت پروموتور بتافازئولین تا ۱۲٫۶ درصد می‌شود (Chandrasekharan *et al.*, 2003).

جعبه اندوسپرم به تعداد پنج عدد موجب بیان پروتئین فازئولین در اندوسپرم بذر می‌شود. این جعبه در پروموتور ژن‌های اختصاصی اندوسپرم حالت حفاظت شده دارد. موتیف opaque-2 که محل اتصال فاکتور نسخه برداری 2-opaque است، به تعداد پنج عدد در پروموتور بتافازئولین وجود دارد. از آنجایی که بیان این فاکتور در گیاه ذرت محدود به آندوسپرم بذر می‌باشد (Van der Geest & Hall, 1997)، بنابراین



شکل ۲- تکثیر پروموتور بتافازئولین با استفاده از واکنش PCR در دمای اتصال ۶۰/۴ درجه

(۱) نشانگر 1kb؛ (۲) کنترل منفی؛ ۳ و ۴) قطعه تکثیر یافته در دو تکرار

Fig. 2. Beta phaseolin promoter amplified using PCR reaction in 60.4 ° C annealing temperture

1. 1 kb DNA Marker; 2. Negative control; 3&4. Amplicon in the two repeat

موتیف در موقعیت‌های ۲۸۳، ۴۳۳، ۴۸۲ و ۱۴۳۹ که نقش آن‌ها هنوز ناشناخته است، برای تحقیقات بعدی حائز اهمیت می‌باشد.

با توجه به نتایج آنالیز بیوانفورماتیکی وجود فاکتورهای مهم و تعیین کننده در بیان اختصاصی و رونویسی بالا توسط پروموتور بتافازئولین مشخص شدند. با آنالیز بیوانفورماتیکی می‌توان در مورد قوی و یا ضعیف بودن پروموتورها و همچنین اختصاصیت آن‌ها قبل از جداسازی، اطلاعات خوبی به دست آورد. از کاربردهای مهم دیگر آنالیز بیوانفورماتیکی پروموتورها شناسایی فاکتورها و موتیف‌های تعیین کننده، استفاده از آن‌ها در جداسازی صحیح و سنتز پروموتورهای مصنوعی است.

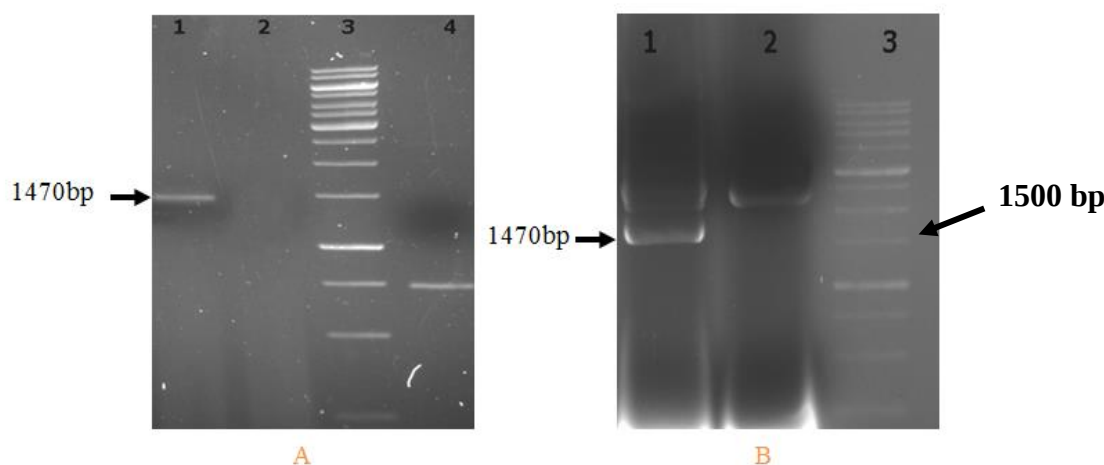
فاکتورهای OSE^۱ که در پروموتورهای گیاهان لگوم مثل لوبیا، سویا، یونجه و غیره وجود دارد، فاکتورهای مرتبط با همزیستی این گیاهان با باکتری ریزوبیوم است (Fehlberg *et al.*, 2005).

نتایج حاصل از آنالیز این توالی‌ها در گونه‌های مختلف با استفاده از نرم افزار تحت وب plant care نشان از وجود ۲۶ عدد موتیف داد که بیشتر موتیف‌ها در گونه‌های مختلف دارای نقشی مهم در بیان بالا و همچنین بیان اختصاصی در بذر می‌باشد و همچنین موتیف‌هایی با نقش‌های مختلفی از جمله پاسخ به آبسزیک اسید، پاسخ به نور کم، پاسخ به دمای کم، در پروموتور ژن‌های فازئولین وجود دارند. همچنین وجود چهار

^۱ Organ specific elements (OSE)

بعد از استخراج پرموتر بتافازئولین از وکتور pTZ57R/T در وکتور بیانی pBI121 ساب کلون شد و به منظور تأیید نهایی وجود پرموتر بتافازئولین در وکتور pBI121 واکنش PCR با پرایمرهای اختصاصی و پلاسمید pBI121 به عنوان الگو انجام شد و همان طور که انتظار می رفت باند در اندازه ۱۴۷۰ bp مشاهده شد (شکل ۴). همچنین هضم آنزیمی به مدت یک شب توسط آنزیم‌های *Hind III* و *XbaI* انجام شد و خارج شدن قطعه ۱۴۷۰ bp صحت کلونینگ را تأیید کرد (شکل ۵).

برای بهینه سازی واکنش PCR، دماهای اتصال با استفاده از گرادیانت دمایی از ۵۵ تا ۶۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفتند و بهترین نتایج در مرحله اتصال در دمای ۶۰/۴ به دست آمد. محصول PCR، قطعه‌ای با اندازه مورد انتظار ۱۴۷۰ bp بود (شکل ۲). قطعه مدنظر پس از استخراج از ژل در واکنش اتصال استفاده شد و نتیجه آن پلاسمید نو ترکیب pTZ57R/T بود که واکنش PCR و هضم آنزیمی با آنزیم‌های *Hind III* و *XbaI* صحت کلونینگ را نشان داد (شکل ۳).

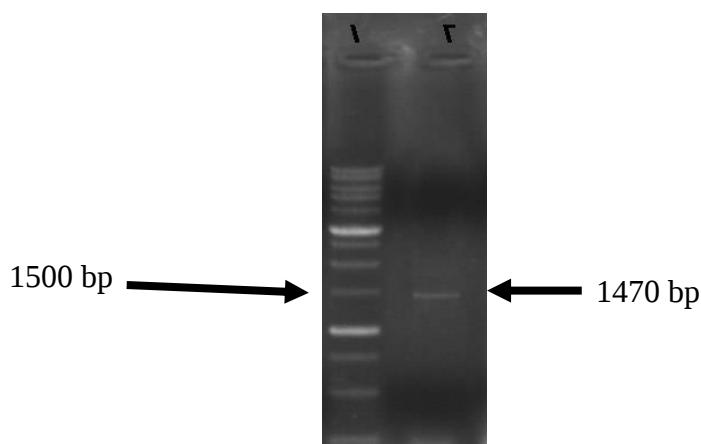


شکل ۳- نتایج حاصل از واکنش PCR (A) و هضم آنزیمی (B) با استفاده از آنزیم‌های *Hind III* و *XbaI* روی پلاسمید نو ترکیب pTZ57R/T
A) ۱- قطعه تکثیر یافته؛ ۲- کنترل منفی؛ ۳- نشانگر 1 kb؛ ۴- کنترل مثبت؛

B) ۱- پلاسمید بعد از هضم که قطعه مورد نظر از آن خارج شده؛ ۲- پلاسمید قبل از هضم؛ ۳- نشانگر 1kb

Fig. 3. results of the PCR reaction (A) and digestion (B) using *Hind III* and *XbaI* enzymes on the pTZ57R / T recombinant plasmid:

A) 1. Amplicons; 2. Negative control; 3. 1 kb DNA Marker; 4. Positive control;
B) 1. Plasmid without insert after digestion; 2. Plasmid before digestion; 3-1 kb DNA Marker

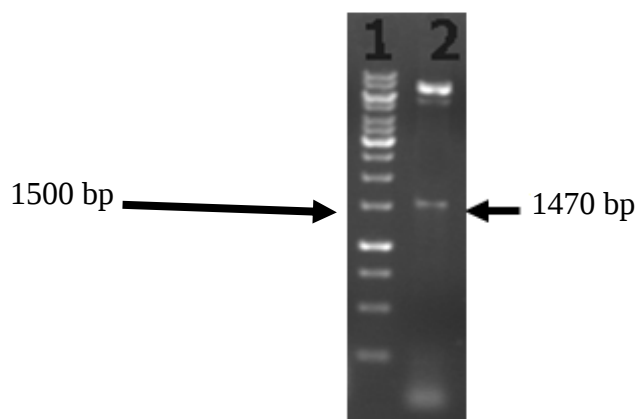


شکل ۴ - محصول کلونی PCR بروی پلاسمید pBI121 با پرایمرهای اختصاصی

(۱) نشانگر 1 kb؛ (۲) کلونی PCR

Fig. 4. Colony product PCR with specific primers on the pBI121 plasmid

1. 1 kb DNA Marker ; 2. PCR cloning



شکل ۵- هضم آنزیمی پلاسمید نو ترکیب pBI121 با آنزیم‌های *HindIII* و *XbaI*

(۱) نشانگر 1 kb؛ (۲) پلاسمید نو ترکیب بعد از هضم

Fig. 5. Digestion of recombinant pBI 121 plasmid by *HindIII* and *XbaI* enzymes

1. 1 kb DNA Marker; 2. recombinant pBI 121 plasmid after digestion

گزارش دیگری آمده است که توالی‌های بالادست پروموتور (از ۵۰۰ bp تا ۱۴۵۸ bp-) حاوی توالی‌های MAR^۲ است که موجب افزایش بیان در ژن‌های تحت کنترل می‌شود (Van der Geest & Hall., 1997).

همچنین Bustos *et al*, (1991) نیز گزارش کرده‌اند که یک دومین با اثر کنترلی مثبت در محدوده ۳۹۱- تا ۴۶۸- وجود دارد که موجب بیان ژن در هیپوکوتیل بذر می‌شود. فلذا، در این تحقیق جداسازی پروموتور به صورت کامل انجام گرفت. اما نکته قابل توجه این است که در صورت وجود محدودیت در اندازه پروموتور و در صورت سنتز پروموتور مصنوعی می‌توان ۲۹۵ bp از توالی پروموتور بتافازئولین را جداسازی کرد و از آن استفاده کرد.

با توجه به این که تهیه سازه‌های ژنی مناسب یکی از مهم‌ترین قسمت پروژه‌های انتقال ژن به گیاهان محسوب می‌شود، فلذا انتخاب پروموتور مناسب برای این سازه‌ها اهمیت به سزایی دارد و هدف اصلی این پژوهش آماده‌سازی قسمت مهم یک سازه ژنی یعنی پروموتور است که در مراحل بعدی آن را به گیاه انتقال داد و پروتئین‌ها و آنزیم‌های کاربردی را به صورت اختصاصی و در میزان بالایی در بذور تولید کرد.

نتایج حاصل از توالی‌یابی تشابه ۹۹ درصدی را با توالی موجود در NCBI نشان داد و این نتایج نشان داد که توالی پروموتور مورد نظر در رقم صیاد لوبیا به عنوان یک پروموتور قوی می‌تواند به عنوان بخش مهمی از یک سازه ژنی در تراریخت کردن گیاهان مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که ۲۹۵ bp از پروموتور بتافازئولین کاملاً مرتبط با بیان اختصاصی بذر است این قسمت شامل سه بخش: ۱- توالی ۶۸ bp (۲۲۷- تا ۲۹۵-) که با عنوان توالی افزایش‌دهنده بذری (SSE)^۱ شناخته می‌شود، ۲- بخش میانی (۱۰۹- تا ۲۲۷-) و ۳- پروموتور پایه (۱۰۹- تا ۲۰+) (Van der Geest & Hall, 1997).

وجود توالی SSE و بخش میانی به طور همزمان در کنار پروموتور پایه باعث اثرات افزایشی در بیان ژن می‌شود. بنابراین در جداسازی پروموتور بتافازئولین باید به این نکته توجه داشت که بخش‌های مهم و تعیین‌کننده پروموتور جداسازی شود.

در نتایج مطالعات گزارش شده است که حتی اگر پروموتور به صورت کامل یعنی ۱۴۷۰ bp هم جدا نشود و فقط ۲۹۵ bp آن جدا شود، بیان ژن تحت کنترل به صورت اختصاصی در بذر انجام می‌شود (Van der Geest & Hall, 1997) که با توجه به تراکم بالای فاکتورهای تنظیمی در این ناحیه، این نتیجه قابل انتظار است. اما در

^۲ Matrix attachment region

^۱ Seed Specific Enhancer

منابع

1. Baumlein, H., Nagy, I., Villarroel, R., Inz, D., and Wobus, U. 1992. Cis- analysis of a seed protein gene promoter: the conservative RY repeat CATGCATG within the legumin box is essential for tissue-specific expression of a legumin gene. *Plant Journal* 2: 233-239.
2. Bustos, M.M., Begum, D., Kalkan, F.A., Battraw, M.J., and Hall, T.C. 1991. Positive and negative cis-acting DNA domains are required for spatial and temporal regulation of gene expression by a seed storage protein promoter. *The EMBO Journal* 10(6): 1469-1479.
3. Cahoon, E.B., and Shanklin, J. 2000. Substrate-dependent mutant complementation to select fatty acid desaturase variants for metabolic engineering of plant seed oils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97(22): 12350-12355.
4. Chandrasekharan, M.B., Bishop, K.J., and Hall, T.C. 2003. Module-specific regulation of the β -phaseolin promoter during embryogenesis. *The Plant Journal* 33(5): 853-866.
5. Chern, M.S., Eiben, H.G., and Bustos, M.M. 1996. The developmentally regulated bZIP factor ROM1 modulates transcription from lectin and storage protein genes in bean embryos. *The Plant Journal* 10(1): 135-148.
6. De Jaeger, G., Scheffer, S., Jacobs, A., Zambre, M., Zobell, O., Goossens, A., and Angenon, G. 2002. Boosting heterologous protein production in transgenic dicotyledonous seeds using *Phaseolus vulgaris* regulatory sequences. *Nature Biotechnology* 20(12): 1265-1268.
7. Ezcurra, I., Ellerström, M., Wycliffe, P., Stålberg, K., and Rask, L. 1999. Interaction between composite elements in the napA promoter: both the B-box ABA-responsive complex and the RY/G complex are necessary for seed-specific expression. *Plant Molecular Biology* 40(4): 699-709.
8. Fehlbeg, V., Vieweg, M.F., Dohmann, E.M., Hohnjec, N., Pühler, A., Perlick, A.M., and Küster, H. 2005. The promoter of the leghaemoglobin gene Vflb29: functional analysis and identification of modules necessary for its activation in the infected cells of root nodules and in the arbuscule-containing cells of mycorrhizal roots. *Journal of Experimental Botany* 56(413): 799-806.
9. Goto, F., Yoshihara, T., Shigemoto, N., Toki, S., and Takaiwa, F. 1999. Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nature Biotechnology* 17(3): 282-286.
10. Hall, T.C., Chandrasekharan, M.B., and Li, G. 1999. Phaseolin: its past, properties, regulation and future. In: *Seed Proteins* Springer Netherlands P. 209-240.
11. Kawagoe, Y., Campell, B.R., and Murai, N. 1994. Synergism between CACGTG (G-box) and CACCTG c/s-elements is required for activation of the bean seed storage protein β -phaseolin gene. *The Plant Journal* 5(6): 885-890.
12. Keeler, S.J., Maloney, C.L., Webber, P.Y., Patterson, C., Hirata, L.T., Falco, S.C., and Rice, J.A. 1997. Expression of de novo high-lysine α -helical coiled-coil proteins may significantly increase the accumulated levels of lysine in mature seeds of transgenic tobacco plants. *Plant Molecular Biology* 34(1): 15-29.
13. Li, G., Chandler, S.P., Wolffe, A.P., and Hall, T.C. 1998. Architectural specificity in chromatin structure at the TATA box in vivo: nucleosome displacement upon β -phaseolin gene activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95(8): 4772-4777.
14. Ma, Y., and Bliss, F.A. 1978. Seed proteins of common bean. *Crop Science* 18(3): 431-437.
15. Muren, E., and Rask, L. 1995. Processing in vitro of pronapin, the 2S storage-protein precursor of *Brassica nupus* produced in a baculovirus expression system. *European Journal of Biochemistry* 227: 316-321.
16. Shintani, D., and DellaPenna, D. 1998. Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering. *Science* 282(5396): 2098-2100.
17. Thomas, T.L. 1993. Gene expression during plant embryogenesis and germination: an overview. *The Plant Cell* 5(10): 1401-1410.
18. Van der Geest, A.H., and Hall, T.C. 1997. A 68 bp element of the β -phaseolin promoter functions as a seed-specific enhancer. *Plant Molecular Biology* 32(4): 579-588.
19. van der Geest, A.H., and Hall, T.C. 1997. The β -phaseolin 5' matrix attachment region acts as an enhancer facilitator. *Plant Molecular Biology* 33(3): 553-557.
20. Van Droogenbroeck, B., Cao, J., Stadlmann, J., Altmann, F., Colanesi, S., Hillmer, S., and De Jaeger, G. 2007. Aberrant localization and underglycosylation of highly accumulating single-chain Fv-Fc antibodies in transgenic *Arabidopsis* seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(4): 1430-1435.

21. Van Ooyen, A.J.J., Rietveld, K., Quax, W.J., Pen, J., Hoekema, A., Sijmons, P.C., and Verwoerd, T.C. 2006. Production of Enzymes in Seeds and their use. U.S. Patent No. 7,033,627. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
22. Ye, X., Al-Babili, S., Klöti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P., and Potrykus, I. 2000. Engineering the provitamin a (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287(5451): 303-305.

Bioinformatics analysis and isolation of beta-phaseolin promoter from beans (*Phaseolus vulgaris*)

Choupani¹, E., Bagheri^{2*}, Kh. & Maleki³, B.

1. MSc. of Agriculture Biotechnology, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Islamic Republic of Iran
2. Ph.D. Assistant Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Islamic Republic of Iran
3. Ph.D. Associate Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Islamic Republic of Iran

Received: 27 September 2015

Accepted: 24 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.50075

Introduction

Constitutive promoters such as CaMV 35S, which is usually widely used in the plant genetic engineering express downstream genes in the all stages of plant life and in all tissues and if a transgene expressed at incorrect tissue and time perhaps unexpected results would be seen in plant growth. To avoid disadvantages of constitutive promoter function identification and isolation of tissue-specific and strong promoters is very important in genetic engineering. Beta phaseolin is one of the strong seed-specific promoters that controls the expression of about 50% bean seed proteins. Extensive studies in bean (*Phaseolus vulgaris*) and transgenic tobacco have revealed that the promoter for the beta-phaseolin storage protein gene (phas) is stringently regulated. Expression is very high during embryogenesis and microsporogenesis but is absent in vegetative tissues. The utilization of this promoter to optimize the production of seed proteins in bean and other recombinant proteins in other plants would be useful. According to the above-mentioned advantages about seed specific promoter, this study has been conducted to identify and isolate the beta phaseolin gene promoter from bean (*phaseolus vulgaris*) and clone it in pBI121 plants vector.

Materials & Methods

Bioinformatic analysis help the prediction of promoter intensity, proper separation and synthesis of artificial promoter. According to bioinformatic analysis, specific primers using gene runner, vector NT and primer 3 softwares were designed and by using these primers, promoter sequence was amplified from bean genomic DNA. Due to the size of amplified fragment, its authenticity was confirmed. In the next step, the desired sequence ligated into the cloning vector pTZ57R /T and by using PCR and digestion reactions was confirmed. The aim of this study was to isolate beta phaseolin of bean and its use in the preparation of gene constructs. For this reason, we subcloned fragment in plant expression vector (pBI121) and cloning was confirmed by colony PCR and digestion.

Results & Discussion

The results showed more than 20 factors cis such as ACGTSEED2, opaque-2, E-box, legumin box, endosperm box and etc are in beta phaseolin promoter that play a role in the high expression and specificity. ACGTSEED2 factor that is unique in the phaseolin promoter has major role in the expression of specific

*Corresponding Author: bagheri.khadijeh@znu.ac.ir, Tel.: 02433052717, Mobile: 09127422988

genes in the seeds of beans. G-box sequence is one of important cis factors. This factor is of responding to abscisic acid, promoter activity is reduced to 2.6% by removing the G-box. Functional E-site may be necessary to complement the G-box-mediated promoter activation, hence acting as a coupling element. The vicilin core sequence (GCCACCTCA) was initially described as a part of a large vicilin box. The vicilin box (henceforth, this term refers only to the core sequence) is found in the promoters for many seed storage proteins. There is also three TATA box is activated as the promoter core and Plays an important role in being a strong promoter and high expression. Previous studies and portions of the current study confirm that 295 bp from beta phaseolin promoter is relevant seed-specific expression that consists of three parts; 1- Sequence 68 bp (227 to -295) that known as Seed Specific Enhancer (SSE) 2- The middle part (109 to -127) 3- base promoter (+20 to -109). SSE, base promoter and the middle part simultaneously causes increase in gene expression. OSE (Organ specific elements) factors are in the legumes promoters like beans, soybeans, alfalfa, etc, and related to the symbiosis of these plants with the Rhizobium bacteria. Therefore, in this study isolated completely sequence of the beta phaseolin promoter were shown. But it is advisable that if there are restrictions on the size of the promoter and the promoter artificial synthesis can be separated 295 bp of the beta phaseolin promoter sequence.

Conclusion

The promoters are important part of gene constructs and necessary for production of recombinant proteins in genetically modified plants beta phaseolin promoter is a strong and seed-specific promoter, so it has ability for the production of recombinant proteins and building gene constructs.

Key words: Bioinformatic analysis, Seed promoter, Specific promoter

اثر نسبت‌های جایگزینی کشت مخلوط ذرت شیرین (*Zea mays* L.) با ارقام لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) بر عملکرد و اجزای عملکرد

قربانعلی اسدی^{۱*}، سرور خرم‌دل^۱، روشنک شهریاری^۲، فاطمه رنجبر^۲ و مهسا اقحوانی شجری^۲

۱- دانشیاران گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشجویان دکتری گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۰

چکیده

به منظور ارزیابی عملکرد و اجزای عملکرد ذرت شیرین تحت تأثیر نسبت‌های کشت مخلوط ردیفی سری جایگزینی با ارقام لوبیا، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال زراعی ۱۳۹۲-۹۳ اجرا شد. تیمارها شامل نسبت‌های جایگزینی ۵۰+۵۰ و ۷۵+۲۵ درصد ذرت شیرین (رقم چیس) با پنج رقم لوبیا (قرمز، چشم‌بلبلی، سفید، چیتی و توده محلی) و کشت خالص هر دو گیاه بود. نتایج نشان داد که عملکرد دانه ذرت شیرین در کشت خالص بیشتر از کشت مخلوط بود و با افزایش تراکم در نسبت‌های مخلوط با ارقام لوبیا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بالاترین و کمترین عملکرد دانه در بین نسبت‌های مخلوط به‌ترتیب برای ۷۵ درصد ذرت شیرین+۲۵ درصد لوبیا با ۷۳۴/۸۱ گرم بر مترمربع و ۲۵ درصد ذرت شیرین+۷۵ درصد لوبیا با ۳۴۶/۶ گرم بر مترمربع به‌دست آمد. بالاترین میانگین عملکرد دانه ارقام لوبیا در نسبت کاشت ۷۵ درصد لوبیا+۲۵ درصد ذرت شیرین با ۱۶۵/۷ گرم بر مترمربع و پایین‌ترین میزان برای ۲۵ درصد لوبیا+۷۵ درصد ذرت شیرین با ۷۷/۸ گرم بر مترمربع حاصل شد. بالاترین عملکرد دانه در لوبیا چشم‌بلبلی (۲۳۴/۲۳ گرم بر مترمربع) و کمترین میزان در توده محلی (۸۴/۸ گرم بر مترمربع) مشاهده شد. بالاترین نسبت برابری زمین برای نسبت ۲۵ درصد لوبیا+۷۵ درصد ذرت شیرین (۱/۴۷) به‌دست آمد. نتایج تیمارها نشان داد که توده محلی نسبت به سایر ارقام لوبیا توان رقابتی بیشتری نسبت به ذرت شیرین داشت.

واژه‌های کلیدی: توان رقابتی، شاخص برداشت، کشت مخلوط، نسبت برابری زمین

مقدمه

کشورهای در حال توسعه نقش مهمی در بهبود تولید غذا و معیشت مردم منطقه ایفا می‌کند. در این کشورها سیستم‌های کشت مخلوط اغلب به‌طور سنتی در مزارع کوچک توسط کشاورزان مدیریت می‌شوند (Tsubo & Walker, 2002). کشت مخلوط از دیرباز به‌طور سنتی در تولید غذا و معیشت کشورهای در حال توسعه نقش مهمی داشته و هم اکنون از این نظام کشت به‌منظور رفع برخی مشکلات کشاورزی مدرن استفاده می‌شود (Tsubo et al., 2005; Poggio, 2005; Walker & Ogindo, 2003). با وجود این، مدیریت توازن و افزایش کارایی استفاده از عوامل محیطی مانند نور، آب و مواد غذایی در موفقیت این نظام کشت نقش بسزایی دارد. بر همین اساس، استفاده از گونه‌های گیاهی با فنولوژی و خصوصیات مورفولوژیک متفاوت که کمترین رقابت را در یک آشیانه اکولوژیکی ثابت از نظر عوامل محیطی و زمان با یکدیگر ایجاد کنند، گام مهمی در موفقیت کشت مخلوط محسوب

از زمان شروع انقلاب صنعتی رشد جمعیت به‌طور چشمگیری افزایش یافته است و این موضوع همراه با افزایش سطح انتظارات بشر منجر به بهره‌برداری شدیدتر و نامطلوب‌تر از زمین‌های قابل کشت شده است. با این حال، در سیستم‌های مدرن تولید گیاهان زراعی روش‌های مدیریتی بکاررفته توسط کشاورزان برای رسیدن به تولیدی بالاتر در حال بهبود است. از رایج‌ترین این روش‌ها افزایش کارایی مصرف منابعی همچون آب، عناصر غذایی، سطح زمین، تشعشع خورشید و یا دی اکسید کربن اتمسفر است (Awal et al., 2006). یکی از روش‌های مدیریت صحیح تولید محصولات زراعی که منجر به بهبود کارایی مصرف منابع می‌شود، بهره‌گیری از سیستم‌های کشت مخلوط است (Black & Ong, 2000). کشت مخلوط در

*نویسنده مسئول: تلفن همراه: ۰۹۱۵۱۸۴۸۱۶۷، asadi@um.ac.ir

می‌شود. (Manna & Singh, 2001) طی آزمایشی اعلام کردند که برتری کشت مخلوط به دلیل استفاده بهینه از منابع موجود می‌باشد؛ تفاوت اجزای مخلوط در استفاده از منابع، موجب بالا رفتن کارایی استفاده از منابع می‌گردد. علاوه بر این، در این وضعیت کاهش رقابت بین گونه‌ای نسبت به رقابت درون گونه‌ای موجب می‌شود تا دو گیاه در آشیان اکولوژیکی یکسان، رقابتی نداشته باشند (Mushagalusa et al., 2008). همچنین به نظر می‌رسد که بهبود پایداری عملکرد، مزیت اصلی کشت مخلوط است (Rao & Singh, 1990). بهبودی پایداری عملکرد علاوه بر بهبود حاصلخیزی خاک و به تبع آن افزایش رشد و تولید گیاه تحت تأثیر تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، عمدتاً ناشی از کاهش خطر خشکی و آسیب کمتر آفات و بیماری می‌باشد. بر این اساس، طبق مطالعه (Fininsa, 1997) مشخص گردید که کشت مخلوط ذرت و لوبیا، عملکرد لوبیا را ۴۸/۵ درصد افزایش داد.

هدف از کشت مخلوط، بهینه‌سازی استفاده از فضا، زمان و منابع فیزیکی در هر دو قسمت بالا و پایین خاک از طریق به حداکثر رساندن اثرات مثبت و به حداقل رساندن اثرات منفی (رقابت) می‌باشد (Nielsen et al., 2001). موفقیت کشت مخلوط به میزان زیادی به منابع قابل دسترس، شرایط تأثیرگذار بر فنولوژی و رشد در تمام گونه‌ها وابسته است (Mushagalusa et al., 2008). موفقیت این سیستم کشت بستگی زیادی به انتخاب گیاهان اصلی و همراه و همچنین روش‌های کشت آن‌ها به صورت مخلوط دارد (Mushagalusa et al., 2008). در این راستا باید صفات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان اصلی و همراه را مورد توجه قرار داد.

در بین سیستم‌های کشت مخلوط، ترکیب گیاهان غلات و بقولات از جمله معمول‌ترین و قدیمی‌ترین این سیستم‌ها در نقاط مختلف دنیا به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (Ofori & Stern, 1987; Poggio, 2005). به سیستم‌های کشت مخلوطی که در آن‌ها یکی از گونه‌های مخلوط دارای قابلیت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن از طریق همزیستی با باکتری‌های جنس ریزوبیوم است، کشت مخلوط کلاسیک گفته می‌شود. در این شرایط، گیاه غیربقولات از نیتروژن تثبیت‌شده در غده‌های موجود در ریشه بقولات استفاده خواهد کرد. باید به این نکته توجه داشت که نیتروژن فراهم‌شده توسط فرآیند تثبیت بیولوژیکی، به علت این‌که به‌طور تدریجی آزاد شده و میزان فراهمی آن نیز تا حدود زیادی با نیاز گیاه غیربقولات (در صورت انتخاب صحیح گیاهان) منطبق است، بنابراین، به مراتب تأثیر بسیار بیشتری بر کارایی مصرف منابع و تولید گیاهان خواهد داشت. یکی از عوامل مؤثر بر میزان تثبیت بیولوژیکی

نیتروژن توسط گیاهان خانواده بقولات میزان فراهمی نیتروژن در خاک است، به‌طوری‌که هرچه میزان نیتروژن در خاک بیشتر باشد، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن کمتر است. مشاهده شده است که در سیستم‌های کشت مخلوط یک گیاه بقولات با غیربقولات، مصرف نیتروژن توسط گیاه غیربقولات به علت تهی‌شدن نیتروژن خاک، منجر به تحریک فعالیت‌های باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن شده و در نتیجه میزان تثبیت نیتروژن توسط گیاهان بقولات در سیستم‌های کشت مخلوط در مقایسه با تک‌کشتی افزایش می‌یابد (Gao et al., 2009). Fininsa (1997) گزارش کرد که مقدار نیتروژن تثبیت‌شده توسط لوبیا در کشت مخلوط با ذرت به‌طور متوسط در دو فصل از صفر تا ۲۱۷ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیش از تک‌کشتی آن بود. در این راستا بررسی مخلوط لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata*) و ذرت (Koocheki et al., 2009; Geren et al., 2008)، ماش (*Vigna radiate*) و ذرت (Yilmaz et al., 2008)، باقلا (*Vicia faba* L.) و جو (Agegnehu et al., 2006) بیانگر سودمندی نظام کشت مخلوط در مقایسه با تک‌کشتی گیاهان مزبور بوده است. نتایج آزمایش (Koocheki et al., 2008) روی جذب و کارایی مصرف نور در کشت مخلوط ذرت و لوبیا نشان داد که شاخص سطح برگ، میزان جذب نور، تجمع ماده خشک و کارایی مصرف نور ذرت و لوبیا در تیمارهای کشت مخلوط نسبت به تک‌کشتی افزایش پیدا کرد. (Rostami et al., 2011) بررسی اثر تراکم‌های مختلف کشت مخلوط ذرت و لوبیا بر قابلیت جذب و کارایی مصرف نور نشان دادند که شاخص سطح برگ، میزان جذب نور، تجمع ماده خشک و کارایی مصرف نور ذرت در تمام تیمارهای کشت مخلوط نسبت به تک‌کشتی ذرت افزایش یافت، در حالی‌که صفات نام‌برده در لوبیا در تمام تیمارهای کشت مخلوط نسبت به تک‌کشتی کاهش یافتند.

از دیرباز کشت مخلوط ذرت و لوبیا در نقاط مختلف دنیا توسط کشاورزان اجرا می‌شده است. امروزه کشاورزان به‌منظور کاهش هزینه‌های تولید در راستای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و کاربرد غلظت‌های کاهش‌یافته علف‌کش‌ها، تمایل مثبت نشان می‌دهند (Blackshaw et al., 2006; Zhang et al., 2000). تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده از ارقام دارای قدرت رقابتی بالا، تنظیم فاصله ردیف‌های کشت، افزایش تراکم و استفاده از سیستم‌های کشت مخلوط، به‌عنوان عوامل افزایش‌دهنده توان رقابتی گیاهان زراعی مطرح می‌باشند (Blackshaw et al., 2006). به نظر می‌رسد یکی از دلایل موفقیت و ماندگاری این سیستم، کاهش رقابت بین گونه‌ها از طریق انتخاب صحیح ذرت و لوبیا در کنار یکدیگر می‌باشد

جداگانه و یک‌درمیان برای هر گونه انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت با هدف تسهیل در خروج گیاهچه‌ها از خاک به شیوه نشتی صورت گرفت. سایر آبیاری‌ها نیز به فاصله هر هفت روز یک‌بار تا پایان فصل رشد (یک هفته قبل از برداشت) ادامه یافت.

عملیات وجین دستی بنا به ضرورت در طول فصل رشد انجام شد. در پایان فصل رشد (خردادماه) و پس از زردشدن بوته‌ها با حذف اثرات حاشیه‌ای صفات مربوط به عملکرد ذرت شیرین (شامل عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه) و لوبیا (شامل تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن صدانه) از سطح پنج بوته اندازه‌گیری و ثبت شد.

برای ارزیابی نسبت‌های کشت مخلوط نسبت به خالص شاخص نسبت برابری زمین (LER) محاسبه شد (Gliessman, 1995).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

اثر نسبت‌های کشت مخلوط ذرت شیرین بر عملکرد ارقام لوبیا عملکرد دانه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده و متقابل نسبت کشت مخلوط سری جایگزینی با ارقام لوبیا بر عملکرد دانه لوبیا معنی‌دار ($p \leq 0.01$) بود (جدول ۱).

بالاترین میانگین عملکرد دانه ارقام لوبیا در مقایسه نسبت‌های کشت مخلوط مربوط به کشت خالص بود، اما در کشت مخلوط با افزایش نسبت کاشت لوبیا در کشت مخلوط با ذرت شیرین عملکرد دانه افزایش یافت، به‌طوری‌که در مقایسه نسبت‌های مختلف کاشت، عملکرد دانه در نسبت کاشت ۷۵ درصد لوبیا + ۲۵ درصد ذرت شیرین در بالاترین میزان با ۱۶۵/۷ گرم بر مترمربع بود و پایین‌ترین میزان عملکرد نیز در پایین‌ترین تراکم با ۷۷/۸ گرم بر مترمربع حاصل شد (جدول ۲). (2003) Taifehnoori و (2003) Pour Tagi اعلام کردند که با افزایش نسبت کاشت لوبیا عملکرد ماده خشک و عملکرد دانه در واحد سطح افزایش یافته و بیشترین میزان در نسبت‌های بالای کشت حاصل شد. به‌نظر می‌رسد که با افزایش نسبت کاشت، شاخص سطح برگ کافی برای دریافت نور طی مرحله پُرشدن دانه بر سطح خاک ایجاد شده و متعاقباً کارایی مصرف انرژی خورشید افزایش می‌یابد که این مسئله از طریق افزایش میزان نور جذب‌شده سبب افزایش عملکرد دانه در واحد سطح شده است.

(Gliessman, 1995). کشت مخلوط ذرت و لوبیا ثبات عملکرد را بهبود بخشیده و منجر به افزایش کارایی مصرف منابع می‌شود و در نتیجه، کاهش مصرف نهاده‌های خارجی در سیستم‌های تولید محصولات زراعی را به‌همراه دارد (Keating & Carberry, 1993). به‌طور کلی، اگرچه ذرت و لوبیا از جمله گیاهانی هستند که در مطالعات مختلف کشت مخلوط مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته‌اند، ولی تاکنون نتایج زیادی در مورد کشت مخلوط ذرت شیرین با ارقام مختلف لوبیا در دست نمی‌باشد.

بنابراین، با توجه به اهمیت این مطالعه به‌منظور وارد کردن گونه‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در بوم‌نظام‌های زراعی جهت کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، هدف از این مطالعه بررسی اثر نسبت‌های جایگزینی کشت مخلوط ذرت شیرین و ارقام لوبیا بر عملکرد دانه، میزان تجمع ماده خشک، شاخص برداشت و اجزای عملکرد هر دو گیاه بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ انجام گرفت. تیمارها شامل نسبت‌های جایگزینی ۷۵+۲۵، ۵۰+۵۰ و ۲۵+۷۵ درصد ذرت شیرین (رقم چیس^۱ با ارتفاع بوته ۱۵۷ سانتی‌متر، پتانسیل تولید یک بلال در بوته، طول بلال ۲۴ سانتی‌متر و طول دوره رشد ۷۰ روز) با پنج رقم لوبیا (رقم درخشان، بوته‌ای و رشد محدود، مقاوم به بیماری‌های ویروسی و دانه درشت و دارای تیپ رشدی ایستاده)، چشم‌بلبلی (رقم ۲۹۰۰۵، زودرس با رشد نامحدود و رونده)، سفید (رقم الماس مقاوم به بیماری‌های ویروسی و پوسیدگی‌های ریشه‌ای با بازارپسندی مطلوب)، چیتی (رقم صدری، رونده، با دانه‌های گرد و درشت و مقاوم به ریزش دانه و متحمل به بیماری‌های ویروسی) و توده محلی (رقم محلی منطقه رشت، دیررس، نامحدود رشد با تیپ رشدی رونده و مقاوم به بیماری‌های ویروسی) و کشت خالص هر دو گیاه بود.

به‌منظور انجام عملیات آماده‌سازی زمین و تهیه بستر کاشت، از شخم و دیسک استفاده گردید. کاشت ذرت شیرین و لوبیا به‌صورت دستی روی ردیف‌هایی به طول ۲ متر در اردیبهشت‌ماه انجام شد. فاصله بین ردیف‌ها ۶۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف برای ذرت شیرین و لوبیا به‌ترتیب برابر با ۲۰ و ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات کاشت به‌صورت

^۱ Chase

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر نسبت‌های کشت مخلوط ذرت شیرین بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام لوبیا

Table 1. Analysis of variance for the effect of intercropping ratio series with sweet corn on yield and component yield of bean varieties

وزن صد دانه 100-seed weight	تعداد دانه در گلوف Seed no.pod ¹	تعداد غلاف در بوته Pod no.plant ¹	شاخص برداشت Harvest index	عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد دانه Seed yield	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V.
0.10 ns	0.04 ns	1.76 ns	13.18 ns	5211 ns	9121 ns		تکرار Replication
53.36 **	4.33 **	223.21 **	5.77 ns	7898430 **	524697 **	3	نسبت کشت مخلوط (R) Intercropping ratio (R)
47.64**	26.88 **	262.11 **	1454.77 **	11470613 **	1762634 **	4	رقم لوبیا (V) Bean variety (V)
1.24 ns	1.26 *	3.73 ns	22.77 ns	963659 **	27634 **	12	R*V
8.49	0.47	3.98	14.89	31413.69	2824.54	38	اشتباه آزمایشی Error
8.11	9.08	9.15	12.85	10.64	11.67		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)
0.53	0.88	0.92	0.92	0.98	0.97		R

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

در کشت مخلوط میزان ماده خشک افزایش یافت. بیشترین میزان ماده خشک در نسبت کشت ۷۵ درصد لوبیا به مقدار ۶۲۱/۳ گرم بر مترمربع و کمترین میزان ماده خشک در نسبت کشت ۲۵ درصد لوبیا+۷۵ درصد ذرت شیرین به مقدار ۲۷۴ گرم بر مترمربع مشاهده شد (جدول ۲). این افزایش می‌تواند به دلیل ازدیاد پوشش گیاهی و نزدیک شدن آن‌ها به تراکم مطلوب در شرایط مخلوط و استفاده بهتر از منابع محیطی باشد (Rahimi *et al.*, 2002).

در مقایسه ارقام مختلف لوبیا، بالاترین عملکرد بیولوژیک در لوبیا چشم‌بلبلی (به‌میزان ۱۰۷۵/۰۷ گرم بر مترمربع) و کمترین عملکرد بیولوژیک در لوبیاسفید (۳۵۳/۵ گرم بر مترمربع) و توده محلی (به‌میزان ۳۴۸/۳۵ گرم بر مترمربع) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. بررسی اثر متقابل نسبت کاشت و ارقام مختلف لوبیا نشان داد که بالاترین میزان عملکرد بیولوژیک در کشت خالص لوبیا چشم‌بلبلی (با ۱۶۴۷/۷ گرم بر مترمربع) و کمترین میزان ماده خشک در لوبیاسفید و لوبیاچیتی در نسبت کشت ۷۵ درصد لوبیا+۲۵ درصد ذرت شیرین به‌ترتیب به‌میزان ۱۹۴/۰۳ و ۱۸۶/۹۷ گرم بر مترمربع مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند.

(Lesoin & Francis 1999) نیز در کشت مخلوط

ذرت و سویا بیان کردند که رابطه مستقیمی بین عملکرد دانه و تعداد گیاه سویا وجود دارد. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که با افزایش تعداد بوته به‌دلیل توسعه پوشش گیاهی بر سطح خاک و افزایش نور جذب‌شده، عملکرد افزایش یافت. بالاترین عملکرد دانه در لوبیا چشم‌بلبلی (۲۳۴/۲۳ گرم بر مترمربع) و کمترین عملکرد دانه در توده محلی (۸۴/۷۸ گرم بر مترمربع) مشاهده شد که از این نظر تفاوت معنی‌داری با عملکرد دانه لوبیاچیتی نداشت. با بررسی اثر متقابل نسبت کاشت و ارقام مختلف لوبیا مشخص گردید که بالاترین عملکرد دانه در کشت خالص لوبیا چشم‌بلبلی (۳۴۴ گرم بر مترمربع) و کمترین میزان عملکرد دانه در کشت مخلوط لوبیا قرمز با نسبت کاشت ۲۵ درصد لوبیا و ۷۵ درصد ذرت (۴۳ گرم بر مترمربع) مشاهده شد که با نسبت کاشت ۲۵ درصد لوبیا توده محلی و ۷۵ درصد ذرت (۶۵ گرم بر مترمربع) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

عملکرد بیولوژیک: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که

عملکرد بیولوژیک لوبیا از نظر آماری به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نسبت کشت مخلوط با ذرت شیرین و رقم و برهمکنش متقابل این اثرات در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت ($P \leq 0.01$) (جدول ۱).

میزان عملکرد بیولوژیک در کشت خالص در مقایسه با کشت مخلوط با ذرت شیرین بیشتر بود و با افزایش تراکم لوبیا

جدول ۲- مقایسه میانگین عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا تحت تأثیر نسبت‌های کشت مخلوط با ذرت شیرین

Table 2. Mean comparison for effect of yield and yield components of bean affected by intercropping ratios with sweet corn

وزن صد دانه (گرم) 100-seed weight (g)	تعداد دانه در غلاف Seed no.pod ⁻¹	تعداد غلاف در بوته Pod no.plant ⁻¹	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	عملکرد بیولوژیک (گرم بر مترمربع) Biological yield (g.m ⁻²)	عملکرد دانه (گرم بر مترمربع) Seed yield (g.m ⁻²)	تیمارها Treatments
نسبت‌های کشت مخلوط (R) Intercropping ratios (R)						
35.06 bc	7.5 b	19.92 c	29.86 a	621.34 b	165.75 b*	25%C+75%B
36.48 ab	7.20 b	22.38 b	30.66 a	414.66 c	117.81 c	50%C+50%B
38.24 a	7.11 b	26.9 a	30.37 a	274.01 d	77.81 d	75%C+25%B
33.86 c	8.29 a	17.96 d	29.25 a	796.15 a	214.39 a	100%B
ارقام لوبیا (V) Bean varieties (V)						
36.43 ab	9.64 a	27.68 a	22.718 cd	1075.07 a	234.23 a	چشم‌بلبلی Cowpea
34.2 bc	7.58 c	25.35 b	45.28 a	348.45 c	156.88 b	سفید White
36.88 a	8.21 b	21.23 c	38.07 b	414.98 b	152.7 b	قرمز Red
33.62 c	6.3 d	17.75 d	20.23 d	440.70 b	91.11 c	چیتی Pinto
38.45 a	5.93 d	16.94 d	23.87 c	353.5 c	84.78 c	توده محلی Landrace
اثر متقابل نسبت‌های کشت مخلوط × رقم لوبیا Interaction of intercropping ratios× bean varieties						
34.2 b-g	10.26 a	23.7 de	20393 def	1647.73 a	344.0 a	چشم‌بلبلی Cowpea
35.5 a-g	9.76 ab	26.600 cd	21.14 def	1367.5 b	284.9 b	
36.6 a-f	9.41 abc	28.6 abc	23.20 def	822.0 c	190.0 d	
39.4 a	9.11 bc	31.80 a	25.6 d	463.03 efg	118.0 fg	
31.6 g	7.97 de	15.1 gih	23.15 def	687.0 d	156.4 e	سفید White
32.100 fg	6.12 gh	16.8 gih	18.96 f	501.3 ef	95.03 fgh	
34.4 b-g	5.6 h	18.30 fgh	21.31 def	328.5 hi	70.0 ijk	
36.4 a-g	5.48 h	20.80 ef	17.48 f	246.0 ijk	43.0 k	
37.2 a-e	5.43 h	12.8 j	24.94 de	433.0 fg	108.03 fgh	قرمز Red
37.9 a-d	5.6 h	14.8 ij	23.88 de	381.0 gh	91.0 ghij	
38.7 ab	5.93 gh	17 ghi	23.44 def	320.0 hi	75.03 ij	
40 a	6.77 fg	23.2 e	23.21 def	280.0 ij	65.03 jk	
33.8 c-g	9.26 abc	17.3 ghi	34.14 c	665.03 d	227.0 c	چیتی Pinto
36.4 a-g	8.37 cde	18.4 fg	36.97 bc	471.87 efg	174.8 de	
38.3 a-c	7.77 def	21.3 ef	38.40 bc	329.0 hi	126.0 f	
39 ab	7.42 ef	27.9 bc	42.78 ab	194.03 k	83.0 hij	
32.5 e-g	8.56 cd	20.9 ef	43.1 ab	548.0 e	236.5 c	توده محلی Landrace
33.4 d-g	7.67 ef	23 e	48.32 a	385.03 gh	183.0 de	
34.4 b-g	7.27 ef	26.7 cd	46.94 a	273.8 ijk	128.0 f	
36.4 a-g	6.8 fg	30.78 ab	42.78 ab	186.97 k	80.0 ij	

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و برای هر عامل، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند ($p \leq 0.05$).

* Means with the same letter(s) in each column and for each factor have not significant different based on LSD test ($p \leq 0.05$).

Carruthers et al, (1998) نیز با بررسی کشت مخلوط ذرت و لوبیا اعلام کردند که تعداد دانه در نیام لوبیا تحت تأثیر نسبت‌های مختلف کاشت واقع نمی‌شود. نتایج نشان دادند که بالاترین تعداد دانه در غلاف در لوبیا چشم‌بلبلی و کمترین تعداد دانه در غلاف در لوبیاچیتی و توده محلی مشاهده شد. مقایسه نسبت‌های کاشت نشان دادند که بالاترین تعداد دانه در غلاف در لوبیا چشم‌بلبلی در کشت خالص مشاهده شد که در نسبت‌های ۷۵ و ۵۰ درصد لوبیا نیز تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. کمترین میزان تعداد دانه در غلاف در نسبت‌های مختلف کشت توده محلی مشاهده شد (جدول ۲).

وزن صد دانه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که این صفت از نظر آماری تحت تأثیر نسبت کاشت و ارقام مختلف لوبیا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). وزن ۱۰۰ دانه لوبیا در کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص بیشتر بود و با افزایش نسبت کاشت لوبیا در کشت مخلوط میزان آن کاهش یافت؛ به‌طوری‌که در نسبت کاشت ۲۵ درصد لوبیا + ۷۵ درصد ذرت به بالاترین میزان (۳۸/۲۴ گرم) و در کشت خالص لوبیا به کمترین وزن خود (۳۳/۸۶ گرم) رسید (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد که با افزایش نسبت کشت لوبیا رقابت برای استفاده از نور و مواد غذایی افزایش یافته و در نتیجه انتقال مواد فتوسنتزی به دانه به‌خوبی صورت نخواهد گرفت. (Mukhala et al, (1999 با تحقیق بر کشت مخلوط ذرت و لوبیا بیان کردند که با افزایش نسبت کشت لوبیا در کشت مخلوط از وزن دانه لوبیا کاسته شد.

Koocheki et al, (2008) با بررسی کشت مخلوط ذرت و لوبیا اعلام کردند که وزن صد دانه لوبیا تحت تأثیر قرار نگرفت، این در حالی است که Rezvan Beydokhti (2005) بیان کرد که با جابه‌جایی از کشت خالص به سمت مخلوط، وزن دانه لوبیا کاهش یافت.

نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که بالاترین وزن ۱۰۰ دانه در توده محلی و کمترین وزن ۱۰۰ دانه در لوبیاچیتی مشاهده شد (جدول ۲) که دلیل این امر مربوط به تفاوت ژنتیکی ارقام می‌باشد.

شاخص برداشت: این صفت از نظر آماری تحت تأثیر تراکم، نوع و اثرات این دو تیمار قرار نگرفت (جدول ۱). بالاترین شاخص برداشت در لوبیاچیتی و لوبیاسفید با ۵۶/۲۰ درصد و کمترین میزان شاخص برداشت در توده محلی با ۴۵/۷۴ درصد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۲).

شاخص برداشت: شاخص برداشت لوبیا از نظر آماری تنها تحت تأثیر ارقام مختلف لوبیا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). بالاترین میزان شاخص برداشت در لوبیاسفید (۴۵/۲۸ درصد) و کمترین آن در لوبیاچیتی (۲۰/۲۳ درصد) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با لوبیا چشم‌بلبلی نداشت. شاخص برداشت لوبیاسفید در تمام نسبت‌های کاشت اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با سایر ارقام لوبیا نشان داد (جدول ۲). لوبیا قرمز با نسبت کاشت ۷۵ درصد لوبیا + ۲۵ درصد ذرت دارای کمترین مقدار شاخص برداشت بود. (Rahimi et al, (2002 در کشت مخلوط ذرت و سویا بیان کردند که نسبت‌های مختلف کشت بر روی شاخص برداشت تأثیری ندارد و این امر می‌تواند از تغییرات هماهنگ عملکرد دانه و بیولوژیک سطح ناشی شود.

تعداد غلاف در بوته: تعداد غلاف در بوته از نظر آماری تحت تأثیر نسبت کاشت و ارقام لوبیا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). تعداد غلاف در بوته لوبیا در کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما با افزایش نسبت کشت لوبیا در کشت مخلوط تعداد غلاف در بوته کاهش یافت؛ به‌طوری‌که در نسبت کاشت ۲۵ درصد لوبیا + ۷۵ درصد ذرت شیرین بالاترین میزان غلاف به تعداد ۲۶،۹ غلاف در بوته مشاهده شد (جدول ۲). Shafshak et al, (1989) اظهار داشتند که در کشت مخلوط آفتابگردان و سویا تعداد غلاف در بوته به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌گیرد و افزایش می‌یابد. (Jadoski et al, (2000 نیز با انجام آزمایشی بر روی نسبت‌های مختلف کشت لوبیا اعلام کردند که با افزایش نسبت کشت لوبیا، رقابت برای نور و مواد غذایی افزایش یافته و تعداد نیام در بوته کاهش می‌یابد. بالاترین میزان تعداد غلاف در بوته در لوبیا چشم‌بلبلی به تعداد ۲۷/۶۷ غلاف در بوته و کمترین تعداد غلاف در بوته در لوبیاچیتی و توده محلی به ترتیب به تعداد ۱۷/۷۵ غلاف در بوته و ۱۶/۹۴ غلاف در بوته مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. نسبت کاشت ۲۵ درصد لوبیا چشم‌بلبلی و لوبیاسفید بالاترین و در کشت خالص توده محلی کمترین تعداد غلاف در بوته مشاهده شد (جدول ۲).

تعداد دانه در غلاف: تعداد دانه در غلاف لوبیا از نظر آماری تحت تأثیر نسبت کاشت و ارقام مختلف لوبیا در سطح احتمال یک درصد و برهمکنش این دو تیمار در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت (جدول ۱). تعداد دانه در غلاف لوبیا در کشت خالص در مقایسه با کشت مخلوط لوبیا به‌طور معنی‌داری بالاتر بود و نسبت‌های مختلف کاشت لوبیا در کشت مخلوط تأثیر معنی‌داری بر تعداد دانه در غلاف لوبیا نداشت (جدول ۲).

اثر نسبت‌های کشت مخلوط ارقام لوبیا بر عملکرد ذرت شیرین
نتایج تجزیه واریانس اثر نسبت‌های کشت مخلوط ارقام لوبیا بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت شیرین در جدول ۳ نشان داده است.

عملکرد دانه: عملکرد دانه ذرت شیرین از نظر آماری تحت تأثیر معنی‌دار نسبت کاشت و ارقام مختلف لوبیا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۳). به‌طور کلی، عملکرد دانه ذرت شیرین در کشت خالص (۸۵۷ گرم بر مترمربع) بیشتر

از کشت مخلوط بود، اما با افزایش تراکم ذرت در نسبت‌های کشت مخلوط سری‌های جایگزینی با ارقام لوبیا عملکرد دانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که بالاترین و کمترین میزان عملکرد دانه در بین نسبت‌های کشت مخلوط به‌ترتیب برای ۷۵ درصد ذرت شیرین + ۲۵ درصد لوبیا با ۷۳۴/۸ گرم بر مترمربع و ۲۵ درصد ذرت شیرین + ۷۵ درصد لوبیا با ۳۴۶/۶ گرم بر مترمربع به‌دست آمد (جدول ۴).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر نسبت‌های کشت مخلوط ارقام لوبیا بر شاخص‌های عملکرد ذرت شیرین

Table 3. Analysis of variance for the effect of intercropping ratio series with bean varieties on yield criteria of sweet corn

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت Harvest index
تکرار Replication	2	65090 ns	2986.2 ns	18.46 ns
نسبت کشت مخلوط (R) Intercropping ratio (R)	3	566460.8 **	16659800 **	86.428 ns
رقم لوبیا (V) Bean variety (V)	4	439365.4 **	1524300 **	106.69 ns
R*V	12	14272.9 ns	21300 ns	4.61 ns
خطا آزمایشی Error	38	25520.7	88593.1	47.98
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		9.43	9.0	13.56
R		0.95	0.94	0.33

ns, * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد.
ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

لوبیا و ذرت، بالاترین عملکرد دانه ذرت در کشت مخلوط با لوبیاچیتی با نسبت کاشت ۲۵ درصد ذرت و ۷۵ درصد به‌میزان ۶۲۸/۳ گرم بر مترمربع و کمترین میزان عملکرد دانه ذرت در کشت مخلوط با لوبیا چشم‌بلبلی و لوبیا قرمز به‌ترتیب به‌میزان ۴۶۰/۷ و ۴۷۱/۳ گرم بر مترمربع مشاهده شد (جدول ۴).

عملکرد بیولوژیک: عملکرد بیولوژیک ذرت شیرین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نسبت کاشت و ارقام مختلف لوبیا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). بالاترین عملکرد بیولوژیک با ۱۸۳۵ گرم بر مترمربع در کشت خالص و کمترین مقدار آن به‌میزان ۱۰۳۰ گرم بر مترمربع با نسبت کاشت ۵۰ درصد لوبیا + ۵۰ درصد ذرت شیرین مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش نسبت کاشت ذرت در کشت مخلوط به واسطه افزایش تعداد بوته در واحد سطح و همچنین افزایش ساقه و برگ عملکرد بیولوژیک افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین ماده خشک ذرت در کشت مخلوط با توده محلی و لوبیا چیتی با نسبت کاشت ۲۵ درصد لوبیا + ۷۵ درصد ذرت شیرین به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۴).

به‌نظر می‌رسد این امر به‌علت بالاتر بودن تعداد بوته‌های ذرت در واحد سطح می‌باشد. می‌توان این‌گونه برداشت کرد که با توجه به این‌که لوبیا تثبیت‌کننده نیتروژن است و غلات هم برای رشد و تشکیل دانه نیازمند نیتروژن هستند، سیستم کشت مخلوط سبب تأمین این نیاز ذرت شیرین شده است. همچنین باتوجه به این مطلب که کانوپی ذرت دارای حجم و ارتفاع بیشتری در مقایسه با کانوپی لوبیا می‌باشد، بنابراین ذرت رقیب قوی‌تری در جذب نور و سایر منابع برای لوبیا به‌شمار می‌رود. (Koocheki et al, 2008) نیز در ارزیابی کشت مخلوط ذرت و لوبیاچیتی بر اساس سری‌های جایگزینی بیان کردند که رقابت برون‌گونه‌ای لوبیا نسبت به رقابت درون‌گونه‌ای ذرت کاهش می‌یابد و بدین‌ترتیب، فضای بیشتری برای رشد ذرت فراهم شده و ماده فتوسنتزی بیشتری به بلال‌ها انتقال می‌یابد و تعداد دانه افزایش می‌یابد که این مسئله باعث افزایش عملکرد دانه می‌گردد. (Shayghan et al, 2008) در مطالعه روی کشت مخلوط ذرت و ارزن دم‌روباهی به این نتیجه رسیدند که نسبت‌های مختلف کاشت، اثر معنی‌داری بر عملکرد دانه ذرت دارد. در مقایسه اثر نسبت‌های کشت بر ارقام مختلف

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص‌های عملکرد ذرت شیرین تحت تأثیر نسبت‌های کشت مخلوط با ارقام لوبیا

Table 4. Mean comparison for effect of yield criteria of sweet corn affected by intercropping ratios with bean varieties

تیمارها Treatments	عملکرد دانه (گرم بر مترمربع) Seed yield (g.m ⁻²)	عملکرد بیولوژیک (گرم بر مترمربع) Biological yield (g.m ⁻²)	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)
نسبت‌های کشت مخلوط (R) Intercropping ratios (R)			
100%C	857.0a*	183.5a	46.85a
25%B+75%C	734.8 b	138.6 b	53.356 a
50%B+50%C	524.8 c	103c	51.281 a
75%B+25%C	346.6 d	72 d	48.57 a
ارقام لوبیا (V) Bean varieties (V)			
چشم‌بلبلی Cowpea	460.7 c	846.7 c	53.94 ab
سفید White	567 b	1073.3 ab	52.42 ab
قرمز Red	471.3 c	993.3 b	47.27 b
چیتی Pinto	628.3 a	1156. 7 a	54.24 a
توده محلی Landrace	549.7 b	1156. 7 a	47.47 b
اثر متقابل نسبت‌های کشت مخلوط × رقم لوبیا Interaction of intercropping ratios × bean varieties			
100%B			
چشم‌بلبلی 25%C+ 75%B	267 h	540 h	49.97 a
Cowpea 50%C+50%B	440 e	810 fg	54.85 a
75%C+25%B	675 bc	1190 cd	56.98 a
100%B			
قرمز 25%C+ 75%B	320 gh	690 gh	46.51 a
Red 50%C+50%B	450 e	960 ef	46.89 a
75%C+25%B	644 c	1330 bc	48.41 a
100%B			
توده محلی 25%C+ 75%B	356 fg	7900 g	45.74 a
Landrace 50%C+50%B	550 d	1160 d	47.53 a
75%C+25%B	743 ab	1520 a	49.17 a
100%B			
چیتی 25%C+ 75%B	424 ef	820 fg	51.96 a
Pinto 50%C+50%B	634 cd	1170 d	54.55 a
75%C+25%B	827 a	1480 ab	56.20 a
100%B			
سفید 25%C+ 75%B	366 efg	690 gh	48.67 a
White 50%C+50%B	550 d	960 ef	52.58 a
75%C+25%B	785 a	1410 ab	56.20 a

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و برای هر عامل اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند ($p \leq 0.05$).

* Means with the same letter(s) in each column and for each factor have not significant different based on LSD test ($p \leq 0.05$).

شاخص برداشت ذرت در کشت مخلوط ۵۰:۵۰ به حداکثر میزان خود و در حدود ۶۰ درصد رسید.

نسبت برابری زمین (LER)

اگر چه نسبت برابری زمین به‌طور مستقیم شاخص تعیین کننده وضعیت رقابت در کشت مخلوط نمی‌باشد، اما از آنجاکه به‌طور غیرمستقیم معیاری از تأثیر رقابت بر عملکرد هر یک از

شاخص برداشت: اگرچه شاخص برداشت ذرت شیرین از نظر آماری تحت تأثیر تراکم، نوع و اثرات این دو تیمار قرار نگرفت (جدول ۳)، ولی بالاترین شاخص برداشت ذرت در کشت با لوبیاچیتی (۵۶/۹۸ درصد) و کمترین میزان شاخص برداشت در کشت با لوبیاقرمز (۴۶/۵۱ درصد) و توده محلی (۴۵/۷۴ درصد) مشاهده شد و تفاوت بین آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۴). (Rostami et al, (2011) نیز گزارش کردند که

هر یک از آن‌ها برتری دارد و بالاترین نسبت برابری زمین با ۱/۴۷ برای نسبت ۲۵ درصد لوبیا توده محلی + ۷۵ درصد ذرت شیرین به دست آمد (جدول ۵).

گیاهان در مخلوط و نیز عملکرد نهایی مخلوط می‌باشد، لذا می‌توان آن را معیاری از وضعیت رقابت در جامعه گیاهی مخلوط در نظر گرفت (Gliessman, 1995). نتایج این آزمایش نشان داد که در کلیه نسبت‌های کشت مخلوط ذرت شیرین با ارقام لوبیا، اجرای کشت مخلوط نسبت به تک‌کشتی

جدول ۵- اثر نسبت‌های کشت مخلوط ارقام لوبیا با ذرت شیرین بر نسبت برابری زمین
Table 5. Effect of intercropping ratios of bean varieties with sweet corn on land equivalent ration

نسبت‌های کشت مخلوط (ذرت شیرین + لوبیا) Intercropping ratios (sweet corn+ bean)	ارقام لوبیا Bean varieties				
	سفید White	قرمز Red	توده محلی Landrace	چیتی Pinto	چشم‌بلبلی Cowpea
100%+ 0%	-	-	-	-	-
75%+ 25	1.20d*	1.14e	1.27c	1.10f	1.14e
50%+ 50%	1.19d	1.08f	1.34b	1.19d	1.06
25%+ 75%	1.25c	1.12e	1.47a	1.23cd	1.13e
0%+ 100%	-	-	-	-	-

* میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند ($p \leq 0.05$).
* Means with the same letter(s) have not significant different based on LSD test ($p \leq 0.05$).

مخلوط با ذرت می‌باشد. همچنین گزارش شده است که افزایش نسبت برابری زمین در کشت مخلوط غلات با بقولات بیشتر به خاطر افزایش نسبت برابری جزئی در ذرت (غلات) بوده و عملکرد دانه و ماده خشک لوبیا (حبوبات) رابطه مستقیم و معنی‌داری با تراکم لوبیا و نیز رابطه منفی و معنی‌داری با تراکم ذرت (غلات) داشت که احتمالاً به دلیل سایه‌اندازی ذرت بوده است (Koocheki et al., 2009).

سیاسگزاری

اعتبار این پژوهش از محل پژوهش طرح شماره ۲/۲۹۶۶۵ مصوب ۱۳۹۳/۰۲/۲۰ معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌شود.

به نظر می‌رسد که علت این امر مربوط به تراکم مطلوب گیاهی در این تیمار و استفاده بهتر از منابع محیطی می‌باشد. همچنین علت برتری کشت مخلوط دو گونه نسبت به تک‌کشتی آن‌ها را می‌توان به اثر مکملی آن‌ها در استفاده بهینه از منابعی نظیر نیتروژن و آب و به تبع آن کاهش تقاضا برای نهاده‌های خارجی نسبت داد. بیشترین مقدار نسبت برابری زمین (۱/۴۷) در نسبت تراکمی ۷۵ درصد ذرت شیرین + ۲۵ درصد لوبیا مشاهده شد که به نظر می‌رسد علت آن تراکم مطلوب گیاهی در این تیمار و استفاده بهتر از منابع محیطی می‌باشد. در آزمایشی که توسط Abeya et al, (2015) انجام شد نیز به این نتیجه رسیدند که سودمندی کشت مخلوط ذرت و لوبیا در مقایسه با کشت خالص آن‌ها بالاتر است. همچنین Katang (1989) در آزمایشی بر روی کشت مخلوط لوبیا-ذرت شیرین نتیجه‌گیری کرد که لوبیا یک گونه مناسب برای کشت

منابع

1. Abeya, S., Fukai, A., and Rodriguez, D. 2015. As the level of crop productivity increases: Is there a role for intercropping in smallholder agriculture. Field Crop Research 180: 156-166.
2. Agegnehu, G., Ghizam A., and Sinebo, W. 2006. Yield performance and land-use efficiency of barley and faba bean mixed cropping in Ethiopian highlands. European Journal of Agronomy 25: 202-207.
3. Awal, M.A., Koshi, H., and Ikeda, T. 2006. Radiation interception and use by maize/peanut intercrop canopy. Agriculture and Forest Meteorology 139: 74-83.
4. Black, C., and Ong, C. 2000. Utilization of light and water in tropical agriculture. Agriculture and Forest Meteorology 104: 25-47.
5. Blackshaw, R.E., O'Donovan, J., Harker, T.K.N., Clayton, G.W., and Stougaard, R.N. 006. Reduced herbicide doses in field crops: A review. Weed Biology and Management 6: 10-17.

6. Carruthers, K., Prithiviraj, B., Fe, Q., Cloutier, D., Martin, R.C., and Smith, D.L. 1998. Intercropping corn with soybean, lupin and forage yield component responses. *European Journal of Agronomy* 12: 103-11.
7. Fininsa, C. 1997. Effects of planting pattern, relative planting date and intra-row spacing on haricot bean/maize intercrop. *African Crop Science Journal* 5(1): 15-22.
8. Gao, Y., Duan, A., Sun, J., Li, F., Liu, Z., Liu, H., and Liu, Z. 2009. Crop coefficient and water-use efficiency of winter wheat/spring maize strip intercropping. *Field Crops Research* 111: 65-73.
9. Geren, H., Avcioglu, R., Soya, H., and Kir, B. 2008. Intercropping of corn with cowpea and bean: biomass yield and silage quality. *African Journal of Biotechnology* 7(22): 4100-4104.
10. Gliessman, S.R. 1995. *Agroecology, Researching the Ecological Basis for Sustainable Agriculture*. Springer-Verlag, New York, Inc. 380 pp.
11. Jadoski, S.O., Carlesso, R., Wolschick, D., Petry, T., and Frizzo, Z. 2000. Plant population and row spacing for irrigated dry bean. II: Grain yield and yield components. *Brazilian Ciencia Rural* 30: 567-573.
12. Katang, A.B. 1989. The performance of sweet corn and selected legumes in weeded and non-weeded intercropping system. University Putra Malaysia. Pp. 80.
13. Keating, B.A., and Carberry, P.S. 1993. Resource capture and use in intercropping: solar radiation. *Field Crops Research* 34: 273-301.
14. Koocheki, A., Laleghani, B., and Najibnia, S. 2008. Evaluation of intercropping beans and corn production. *Journal of Agricultural Research* 7: 605-614.
15. Koocheki, A., Laleghani, B., and Najibnia, S. 2009. Evaluation of productivity in bean and corn intercropping. *Iranian Journal of Field Crop Research* 7(2): 605-614. (In Persian with English Summary).
16. Lesoing, G.W., and Francis, A.C. 1999. Strip intercropping effects on yield and yield components of corn, grain sorghum, and soybean. *Agronomy Journal* 91: 804-813.
17. Manna, M.C., and Singh, M.V. 2001. Long- term effects of intercropping and biolitter recycling on soil biological activity and fertility status of subtropical soils. *Bioresource Technology* 76: 143-150.
18. Mukhala, E., Juger, J.M., and Vanrensburg, L.D. 1999. Dietary nutrient deficiency in small-scale farming communities in South Africa benefits of intercropping maize and beans. *Nutrition Research* 19(4): 629-641.
19. Mushagalusa, G.N., Ledent, J.F., and Draye, X. 2008. Shoot and root competition in potato/maize intercropping: Effects on growth and yield. *Environmental and Experimental Botany* 64: 180-188.
20. Nielsen, H., Ambus, H.P., and Jensen, E.S., 2001. Interspecific competition N use and interference with weeds in pea-barley intercropping. *Field Crops Research* 70: 101-109.
21. Ofori, F., and Stern, W.R. 1987. Cereal-legume intercropping systems. *Advances in Agronomy* 41: 41-90.
22. Poggio, S.L. 2005. Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109: 48-58.
23. Pour Tagi, N. 2003. *Intercropping Corn and Common Bean*. MSc. Thesis, University of Tabriz. Pp. 90. (In Persian)
24. Rahimi, M., Mazaheri, D., Khodabande, N., and Heidari Sharif Abad, H. 2002. Study of yield and component yield of corn and soybean in intercropping. *Pazhouhesh and Sazandegi* (55): 45-51. (In Persian with English Summary).
25. Rao, M.R., and Singh, M. 1990. Productivity and risk evaluation in contrasting intercropping system. *Field Crops Research* 23: 279-293.
26. Rezvan Beydokhti, S. 2005. *Comparison of different intercropping arrangement of corn and bean*. MSc. Thesis, College of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran. (In Persian with English Summary).
27. Rostami, L., Koocheki, A., and Nassiri Mahallati, M. 2011. The effect of different crop plant densities on radiation absorption and use efficiency by corn (*Zea mays* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.) intercropped canopy. *Journal of Agroecology* 3(3): 290-297. (In Persian with English Summary).
28. Shafshak, S.E., Shokre, E.S., and Ahmar, B.A. 1989. Studies on soybean and sunflower intercropping, plant characteristics, yield and yield components of soybean sunflower. *Field Crops Research* 10:41-56. (In Persian with English Summary).
29. Shayghan, M., Mazaheri, D., Rahimian, H., and Peghambari, S. 2008. Effect of planting date and corn and foxtail millet grain yield and weed control and weed. *Iranian Journal of Crop Sciences* 10(1): 31-46. (In Persian with English Summary).

30. Taifehnoori, M. 2001. 2003. Intercropping of corn and pinto bean. MSc. Thesis University of Tabriz, Tabriz, Iran Pp. 83. (In Persian).
31. Tsubo, M., and Walker, S. 2002. A model of radiation interception and use by a maize-bean intercrop canopy. *Agriculture and Forest, Meteorology* 110: 203-215.
32. Tsubo, M., Walker, S., and Ogindo, H.O. 2005. A simulation model of cereal-legume intercropping systems for semi-arid regions I. Model development. *Field Crops Research* 93: 10-22.
33. Walker, S., and Ogindo, H.O. 2003. The water budget of rainfed maize and bean intercrop. *Physiology Chemistry Earth* 28: 919-926.
34. Yilmaz, S., Atak, M., and Erayman, M. 2008. Identification of advantages of maize-legume intercropping over solitary cropping through competition indices in the East Mediterranean region. *Turkish Journal of Agricultural and Forestry* 32: 111-119.
35. Zhang, Z.H., Weaver, S.E., and Hamill, A.S. 2000. Risks and reliability of using herbicides at below-labeled rates. *Weed Technology* 19: 106-115.

Effect of replacement intercropping ratios of sweet corn with bean varieties on yield and yield components

Asadi^{1*}, G.A., Khorramdel¹, S., Shahriary², R., Ranjbar², F. & Aghhavani Shajari², M.

1. Associate Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2. PhD Student, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Received: 11 November 2015

Accepted: 30 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.50084

Introduction

Conservation agriculture (CA) has been proposed as a set of principles that could help reverse widespread soil degradation in the region and help farmers stabilize yields by mitigating the effects climate variability. Though numerous questions remain on how CA practices might fit in a complex mix grain-grazing farming systems, where limited land, cash and labor impose severe constraints on farmers' options. Intercropping is a CA approach that has been traditionally practiced in many parts of world and has some advantages over monocultures. One of its obvious advantages may be to increase forage protein, the principle being improvement of forage quality through the complementary effects of two or more crops grown simultaneously on the same area of land. Intercropping supplies efficient resource utilization, reduces risk to the environment and production costs, and provides greater financial stability, making the system more suitable particularly for labor-intensive, small farmers. Morpho-physiological differences and agronomic factors such as the proportion of crops in the mixture and fertilizer application regulate competition between component crops for growth-limiting factors. Greater total uptake of nutrients and other growth factors by the component crops in the intercropping is the primary cause of obtaining intercropping advantage. Intercropping research studies involving a cereal and a legume have not considered the combined effect of fertilizer application and plant population variation. Maize and beans are important food crops, mostly grown by resource- poor farmers in complex and risky farming systems. Morgado & Willey (2003) showed that competitive effect of intercrop beans on maize yields was high at higher plant populations.

Materials & Methods

In order to study the production potential and competitiveness of sweet corn and bean varieties, an experiment was carried out based on a randomized complete block design with three replications in the Agricultural Research Station, Ferdowsi University of Mashhad, during growing season of 2014-2015. Treatments included different combinations of bean (B) and sweet corn (C): 25%B+75%C, 50%B+50%C, 75%B+25%C and bean varieties and their monoculture. Bean varieties consisted cowpea, white, red, pinto and landrace and chase sweet corn. Studied criteria were yield components (pod number per plant, seed number per pod and 100-seed weight), biological yield, seed yield and harvest index (HI) of bean and biological yield, seed yield and HI of sweet corn and land equivalent ratio (LER).

Results & Discussion

The results indicated that effect of intercropping ratios were significant ($p \leq 0.05$) on seed yield, biological yield, HI, pod number per plant and seed number per pod and biological yield and seed yield of

*Corresponding Author: asadi@um.ac.ir, Mobile: 09151848167

bean. The highest seed yield of bean was observed in 75%B + 25%C with 1675 g.m⁻² and the lowest was related to 25%B + 75%C with 778 g.m⁻². The maximum seed yield was obtained in pinto (2342.33 g.m⁻²) and the minimum was achieved in landrace (847.75 g.m⁻²). Seed yield of sweet corn in monoculture was higher than intercropping ratios, but by increasing density in intercropping ratios with bean varieties it significantly enhanced. The highest and the lowest seed yield in intercropping ratios were observed in 75%C + 25%B with 7348.1 g.m⁻² and 25%C + 75%B with 3466 g.m⁻², respectively. In all combinations of intercropping ratios LER was higher than 1, that it represents intercropping is better than monoculture. The maximum land equivalent ratio was calculated with 1.47 for 25%B (landrace) + 75%C. The results showed that landrace was competitive than other varieties.

Conclusion

The effect of intercropping ratios of sweet corn with bean landraces were significant ($p \leq 0.05$) on seed yield, biological yield, HI and yield components of the crops. The maximum seed yield was obtained in pinto and the minimum was achieved in landrace. Seed yield of sweet corn in monoculture was higher than intercropping ratios, but by increasing density in intercropping ratios with bean varieties it significantly enhanced. According to the results, intercropping of plants of 25%B (landrace) + 75%C can be beneficial in term of ecological management.

Key words: Competitiveness, Harvest index, Intercropping, Land equivalent ratio

بررسی تأثیر برخی علف‌کش‌های پس‌رویشی بر مدیریت علف‌های هرز و صفات مربوط به عملکرد در باقلا (*Vicia faba*)

زینب بوعلی^۱ و سعید سعیدی‌پور^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد رشته شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز

۲- استادیار گروه شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۱

چکیده

علف‌های هرز همواره از رقبای قوی گیاهان زراعی به‌شمار آمده و امروزه بخش جدایی‌ناپذیر سیستم‌های زراعی هستند که موجب وارد آمدن آسیب و زیان به محصولات زراعی می‌شوند. یک مطالعه میدانی در مزرعه تحقیقاتی زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر در سال زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۳ جهت ارزیابی اثربخشی برخی از علف‌کش‌های پس‌رویشی بر رشد علف‌های هرز و تأثیر آن‌ها بر رشد و عملکرد باقلا انجام شد. تیمارها شامل: ۱- علف‌کش بنتازون ۱/۵ لیتر در هکتار + هالوکسی فپ-آر-۰/۶ لیتر در هکتار ۲- بنتازون ۱/۵ لیتر در هکتار + ستوکسیدایوم ۱/۵ لیتر در هکتار، ۳- بنتازون ۱/۵ لیتر در هکتار + فنوکسپراپ-پی-۰/۷ لیتر در هکتار، ۴- ایمازتاپیر ۰/۶ لیتر در هکتار، ۵- ایمازتاپیر ۰/۴ لیتر در هکتار و دو تیمار شاهد کنترل وجین دستی و عدم کنترل علف‌های هرز در سراسر فصل جهت مقایسه سایر تیمارها نیز اعمال شدند. آزمایش با چهار تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا گردید. نتایج نشان داد در مقایسه با تیمار شاهد بدون کنترل، استفاده از علف‌کش‌ها موجب کاهش زیست‌توده علف‌های هرز و افزایش عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه باقلا شد. در این میان بیشترین کاهش وزن خشک علف‌هرز به‌میزان ۹۸/۷ درصد مربوط به تیمار ایمازتاپیر به‌میزان ۰/۶ لیتر در هکتار بود که با تیمار بنتازون + هالوکسی فپ-آر-۰/۶ لیتر در یک گروه آماری قرار گرفت. حداکثر عملکرد بیولوژیک باقلا در تیمار شاهد کنترل مکانیکی در سراسر فصل به‌میزان ۱۵۵۱۳/۴ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد که با دیگر تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان داد. در میان علف‌کش‌ها، حداکثر عملکرد دانه مربوط به تیمار ایمازتاپیر دوز ۰/۶ لیتر در هکتار به‌میزان ۲۵۴۵/۵ کیلوگرم در هکتار بود. البته بین تیمارهای علف‌کش به لحاظ عملکرد دانه تفاوت آماری معنی‌داری در پنج درصد مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: علف‌کش ایمازتاپیر، عملکرد دانه، وزن خشک علف‌هرز

مقدمه

باقلا (*Vicia faba* L.) عمدتاً در کشورهای در حال توسعه در آمریکای لاتین، آفریقا و آسیا رشد می‌کند و یکی از حبوبات مهم جهت استفاده مستقیم انسان در سراسر جهان است. این محصول عمدتاً به‌صورت خشک‌شده، همراه با پوست (به‌هنگام بلوغ فیزیولوژیکی) و یا به‌صورت غلاف سبز مصرف می‌شود. این گیاه از طرفی یک منبع عمده در جیره پروتئین بوده و مکمل منابع غنی از کربوهیدرات مانند برنج، ذرت و گندم است. همچنین منبع غنی از فیبر، مواد معدنی و ویتامین‌های خاص در رژیم غذایی انسان است.

(Gepts et al., 2008). کشاورزان اغلب علف‌های هرز را به‌عنوان

یکی از عمده‌ترین محدودیت‌های بیولوژیکی در رشد موفق حبوبات می‌دانند. در واقع در مقایسه با غلات، حبوبات عمدتاً یک عادت رشد نامحدود همراه با نرخ رشدی آهسته در مراحل اولیه چرخه زندگی خود را دارا هستند که این ویژگی غالباً به نفع ظهور و رشد علف‌های هرز است (Al-Thahabi et al., 1994; Smitchger et al., 2012). تداخل علف‌های هرز در زراعت لوبیا^۲ ضمن تأثیر منفی بر کارایی برداشت و کیفیت بذر (Burnside et al., 1994; Bauer et al., 1995; Urwin et al., 1996) می‌تواند عملکرد دانه را تا ۸۳ درصد کاهش دهد (Arnold et al., 1993; Malik et al., 1993; Chikoye et al., 1995). امروزه، کنترل جمعیت علف‌های هرز و نه ریشه‌کن

*نویسنده مسئول: شوشتر، بلوار دانشگاه، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی

واحد شوشتر، کدپستی: ۶۴۵۱۷۴۱۱۷، تلفن: ۰۶۱۲۶۲۳۲۴۹۱-۹

تلفن همراه: ۰۹۱۶۳۱۷۱۹۷۸، saeed79@gmail.com

^۲ *Phaseolus vulgaris*

انتخابی در خانواده حبوبات و بدون داشتن اثر سوزندگی به کار می‌رود. مولکول این علف‌کش پس از ورود به گیاه میزبان هیدروکسیله شده و در مرحله بعد با گلوکز گیاه ترکیب و کاملاً بی‌اثر می‌گردد (Arnold et al., 1993).

با توجه به مطالب مذکور، این تحقیق با هدف بررسی ارزیابی پاسخ عملکرد باقلا به برخی از علف‌کش‌های پس‌رویشی با توجه به عدم وجود پیشینه تحقیق کافی در زمینه کاربرد این علف‌کش‌ها در زراعت باقلا طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، با موقعیت جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۰ دقیقه شمالی و ۴۸ درجه و ۵۰ دقیقه شرقی، با آب‌وهوای خشک و نیمه‌خشک، میانگین بارش ۳۲۱/۴ میلی‌متر و متوسط درجه حرارت سالانه حداقل و حداکثر به ترتیب ۹/۵ و ۴۶/۳ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بافت خاک لوم رسی، با اسیدیته ۷/۴ و ۰/۶ درصد ماده آلی و هدایت الکتریکی ۳/۲ دسی‌زیمنس بر متر بود. میزان فسفر و پتاس به ترتیب ۱۰/۴ و ۱۵۵ قسمت در میلیون و درصد مواد آلی ۰/۴ در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک به دست آمد. عملیات تهیه زمین شامل شخم با گاوآهن برگردان دار، دیسک و تسطیح بود. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل: ۱- علف‌کش بازآگران (بنتازون) با فرمولاسیون ۴۸ درصد SL به میزان ۱/۵ لیتر در هکتار + هالوکسیفوپ-آر-متیل (سوپرگلانت) با فرمولاسیون ۱۰/۸ درصد EC به میزان ۰/۶ لیتر در هکتار، ۲- بازآگران ۱/۵ لیتر در هکتار + ستوکسیدیم (ناپواس) با فرمولاسیون ۱۲/۵ درصد OEC به میزان ۱/۵ لیتر در هکتار، ۳- بازآگران ۱/۵ لیتر در هکتار + فنوکسپراپ-پی-اتیل (ویپ‌سوپر) با فرمولاسیون ۱۲ درصد EC به میزان ۰/۷ لیتر در هکتار، ۴- ایمازتاپیر (پرسویت) با فرمولاسیون ۱۰ درصد SL به میزان ۰/۶ لیتر در هکتار، ۵- ایمازتاپیر ۰/۴ لیتر در هکتار به صورت پس‌رویشی و شاهد کنترل کامل در سراسر فصل و عدم کنترل بودند. ابعاد کرت‌ها ۳×۶ متر مربع شامل چهار خط کشت با فواصل ۷۵ سانتی‌متر از یکدیگر. بذور باقلا رقم سرازیری با تراکم ۲۲۰ هزار بوته در هکتار و در عمق سه تا چهار سانتی‌متر در اواخر آبان‌ماه کشت شدند. تیمارهای علف‌کشی در مرحله دو تا سه برگ‌چه‌ای باقلا (دو تا چهار برگ علف‌هرز) توسط سم‌پاش از نوع کوله‌پشتی با نازل تی‌جت و با فشار یکنواخت ۲۲۰ تا ۲۴۰ کیلوپاسکال و حجم آب مصرفی ۲۰۰ لیتر در هکتار اعمال شدند. کرت‌های شاهد بدون علف‌هرز در سراسر دوره رشد برای پیشگیری از

کردن آن‌ها مورد توجه است. کنترل شیمیایی علف‌های هرز به دلیل تأثیر سریع و مطلوب آن در سراسر جهان توسعه یافته و این روش یکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین راهکارهای کنترل علف‌های هرز است. تعداد علف‌کش‌های پس‌رویشی قابل‌استفاده در زراعت باقلا محدود است. تحقیقات بیشتری برای شناسایی علف‌کش‌های پس‌رویشی که علف‌های هرز پهن برگ را در زراعت باقلا کنترل می‌کنند، مورد نیاز است. یکی از علف‌کش‌های قابل استفاده در زراعت باقلا بنتازون است که بازدارنده فتوسنتزی از طریق اثر بر مرکز واکنش فتوسیستم II می‌باشد. Khajehpour (2004) نشان داد که استفاده ۲ تا ۳ لیتر در هکتار از بنتازون به عنوان یک علف‌کش پس‌رویشی در کشت باقلا به‌طور قابل توجهی هجوم علف‌های هرز پهن برگ را کاهش می‌دهد. بنتازون علف‌کشی است که به صورت انتخابی علف‌های هرز پهن برگ نظیر خردل وحشی^۱، سلمه‌تره^۲، گاوپنبه^۳، تاج‌خروس^۴، خرفه^۵، تربچه وحشی^۶، تاتوره^۷، توق^۸، کیسه‌کشیش^۹ و گندمک^{۱۰} را کنترل می‌کند (Ontario Ministry of Agriculture & Food, 2004; Vencill, 2002). ستوکسیدیم و فنوکسپراپ-پی-اتیل علف‌کش‌های بازدارنده استیل کوانزیم A هستند، این آنزیم برای سنتز اسیدهای چرب و پس از آن برای ساخت فسفولیپیدهای غشاهای سلولی گیاه مورد نیاز است. این علف‌کش‌ها می‌توانند گونه‌های علف‌هرز یک‌ساله و چندساله نظیر ارزن وحشی^{۱۱}، سوروف^{۱۲}، ذم‌روباهی^{۱۳} و تلخه^{۱۴} را کنترل کنند (Ontario Ministry of Agriculture and Food, 2004; Vencill, 2002). ایمازتاپیر از علف‌کش‌های ایمیدازولین است که پهن برگ‌ها و نازک‌برگ‌هایی نظیر سلمه‌تره، تاج‌خروس، خردل وحشی، گاوپنبه، نیلوفر پیچ^{۱۵} و گندمک را کنترل می‌کند (Ontario Ministry of Agriculture, Food & Rural Affairs, 2004; Vencill, 2002).

^۱ *Sinapis arvensis*

^۲ *Chenopodium album*

^۳ *Abutilon theophrasti*

^۴ *Amaranthus retroflexus*

^۵ *Portulaca oleracea*

^۶ *Raphanus raphanistrum*

^۷ *Datura stramonium*

^۸ *Xanthium strumarium*

^۹ *Capsella bursa-pastoris*

^{۱۰} *Stellaria media*

^{۱۱} *Panicum dichotomiflorum*

^{۱۲} *Echinochloa crus-galli*

^{۱۳} *Setaria viridis*

^{۱۴} *Digitaria sanguinalis*

^{۱۵} *Polygonum convolvulus*

اثرات تداخلی به صورت وحین دستی کنترل شدند. شمارش علف‌هرز با استفاده از میانگین سه کوارات 0.5×0.5 مترمربع در هر پلات قبل و سه هفته بعد از اعمال تیمار علف‌کش‌ها تعیین گردید. برای محاسبه زیست‌توده، علف‌های هرز یک هفته پیش از برداشت محصول از سطح خاک کف‌بر شده و در دمای 75°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. سایر شاخص‌های رشد مربوط به گیاه زراعی از جمله ارتفاع بوته از میانگین ۱۰ بوته در هر پلات، پنج هفته پس از اعمال تیمارها و شاخص سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ CI202 تعیین شد. رسیدگی کامل بر اساس تبدیل رنگ ۹۰ درصد غلاف‌ها از سبز به طلایی در تیمار شاهد مشخص شد. بوته‌ها در هر کرت به صورت دستی برداشت شد و وزن خشک اندام هوایی از سطحی معادل یک مترمربع در هر کرت برآورد شد. عملکرد بر اساس رطوبت ۱۳ درصد تعیین گردید. آنالیز اطلاعات ثبت‌شده با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد. عمل تبدیل به جذر داده‌ها به جهت همگن‌سازی توزیع در مورد تراکم علف‌های هرز نیز انجام گرفت.

نتایج و بحث

کنترل علف‌های هرز

تیمارهای علف‌کش اعمال‌شده موجب کاهش معنی‌دار زیست‌توده و تراکم علف‌های هرز ($p \leq 0.05$) در مقایسه با تیمار شاهد عدم کنترل شدند (جدول ۱). تیمارهای علف‌کش مخلوط بنتازون + نابواس و ایمازتاپیر 0.6 لیتر در هکتار بیش از سایر تیمارها در کنترل علف‌های هرز موفق بودند و زیست‌توده علف‌هرز را در مقایسه با تیمار شاهد عدم کنترل تا 98.7% درصد کاهش دادند (جدول ۴). به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در کنترل علف‌های هرز بین کاربرد ایمازتاپیر به‌تنهایی و مخلوط

بنتازون + نابواس وجود نداشت (جدول ۳). این نتایج با یافته Blackshaw et al, (2000) مبنی بر کنترل موفق علف‌های هرز در زراعت لوبیا در نتیجه کاربرد ۲۰ تا 35 گرم ماده مؤثره در هکتار ایمازتاپیر به صورت پس از خروج مطابقت دارد. بین تیمارها تفاوت معنی‌داری به لحاظ تأثیر بر تراکم علف‌های هرز مشاهده شد (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که تیمار ایمازتاپیر با دوز 0.6 لیتر در هکتار تراکم کل علف‌های هرز را به میزان 66.2% درصد کاهش داد. تفاوت آماری معنی‌داری بین کاربرد ایمازتاپیر 0.6 لیتر در هکتار به‌تنهایی و مخلوط بنتازون + سوپرگلانت یا مخلوط بنتازون + نابواس مشاهده نشد (جدول ۴). کمترین تأثیر مربوط به تیمار ایمازتاپیر 0.4 لیتر در هکتار بود. مطالعات دیگر نشان داد که 50 گرم ماده مؤثره در هکتار ایمازتاپیر به صورت پس‌رویشی موجب کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در طی فصل طولانی رشد لوبیاچیتی شد (Blackshaw & Esau, 1991). نیاز به دوزهای مختلف ایمازتاپیر نشان‌دهنده این است که مدیریت علف‌های هرز در زراعت باقلا بستگی به گونه‌های علف‌هرز موجود دارد (جدول ۲). کاربران مدیریت علف‌های هرز باید دوز علف‌کش ایمازتاپیر را بر اساس ترکیب گونه‌ای علف‌های هرز تنظیم کنند. در این آزمایش همان‌گونه که در جدول ۲ آمده است، غالبیت با گونه‌های علف‌های هرز پهن‌برگ بوده است.

اثر تیمارها بر ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ باقلا

ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ تحت تأثیر تیمارهای علف‌کش قرار گرفت (جدول ۳). ارتفاع بوته در باقلا از آن جهت مهم است که گیاهان کوتاه‌تر ممکن است به دلیل شکسته‌شدن در نوار برش کمباین حین برداشت، موجب کاهش عملکرد دانه شوند. ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ در تیمار شاهد عدم کنترل نسبت به تیمار کنترل دستی کاهش یافت.

جدول ۱- آنالیز واریانس وزن خشک و تراکم علف‌هرز ۲۱ روز پس از اعمال تیمارهای علف‌کش‌های پس‌رویشی در زراعت باقلا

Table 1. Analysis variance of weed dry weight (WDW) and number of weed per square meter (NWQ) 21 days after different post emergence herbicide application in field of broad bean

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات وزن خشک علف‌هرز WDW	میانگین مربعات تراکم علف‌هرز NWQ
Replication	تکرار	3	805.86 ^{ns}	1.72 ^{ns}
Herbicide	علف‌کش	5	66489.4 ^{**}	3.99 ^{**}
Error	خطا	15	936.62	1.64
%CV	درصد ضریب تغییرات		11.43	10.23

ns و **: به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطح یک درصد

ns, **: indicate non-significant and significant at the $P \leq 0.01$ level.

جدول ۲- مقایسه میانگین تراکم علف‌های هرز تحت اثر تیمارهای مختلف علف‌کش‌های پس‌رویشی در باقلا

Table 2. Mean number of weeds under different post emergence herbicides on broad bean

Treatment	تیمار	سلمه <i>Chenopodium album</i>	یونجه وحشی <i>Medicago sp</i>	چچم <i>Lolium temulentum</i>	یولاف <i>Avena fatua</i>	پنیرک <i>Malva sylvestris</i>	فالاریس <i>Phalaris aquatica</i>
Weedy check	عدم کنترل	26.34 b	25.82 a	25.28 a	8.98 a	10.66 a	22.97 a
Basagran + Fenoxaprop- p-ethyl	بازگران + فنوکساپروپ-پی- اتیل	8.04 c	27.92 a	37.97 a	1.85 b	4.25 b	2.53 b
Imazthapyr (0.6)	ایمازتاپیر (۰/۶)	0 d	27.03 a	0 b	0 b	0 c	2.06 b
Imazthapyr (0.4)	ایمازتاپیر (۰/۴)	43.33 a	38.68 a	0 b	8.31 a	12.64 a	3.87 b
Basagran + Haloxyfop-R- methyl	بازگران + هالوکسی فپ- آر- متیل	13.77 bc	29.32 a	0 b	0 b	9.96 a	0 b
Basagran + Sethoxydim	بازگران + ستوکسیدیم	11.54 c	13.45 a	0 b	10.28 a	6.01 b	0 b

حروف مشابه در هر ستون در سطح پنج درصد غیر معنی‌دار هستند.

The same letters in each column indicate non-significant at the $P \leq 0.05$ level.

کنترل به دلیل ناکارآمد بودن تیمارها در کنترل علف‌های هرز، تعداد غلاف در بوته کاهش یافت (جدول ۴).

اثر تیمارهای آزمایش بر تعداد دانه در غلاف و وزن صدانه

اثر تیمارهای علف‌کش بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار بود (جدول ۳). در میان تیمارها، بیشترین و کمترین تعداد دانه در غلاف به تعداد ۵/۴۲ و ۲/۸۷ به ترتیب در تیمارهای کنترل کامل و عدم کنترل در سراسر فصل رشد به دست آمد (جدول ۴). افزایش تراکم علف‌های هرز موجب کاهش تعداد غلاف باقلا، باروری گلچه و تعداد دانه در غلاف احتمالاً به واسطه سایه‌اندازی علف‌های هرز شده است. نتایج نشان داد که اگر علف‌های هرز به شکل مناسبی کنترل نشوند، اثر منفی رقابت علف‌هرز بر روی تعداد دانه باقلا افزایش می‌یابد. در بین تیمارهای علف‌کش تفاوت معنی‌داری به لحاظ تعداد دانه در غلاف مشاهده نشد (جدول ۳). اثر تیمارهای علف‌کش بر وزن صدانه شبیه اثر آن بر تعداد دانه در غلاف بود. بیشترین و کمترین وزن صدانه با ۹۶/۱۸ و ۸۵/۰۸ گرم به ترتیب در تیمارهای کنترل کامل و عدم کنترل مشاهده شد (جدول ۴). به لحاظ مقایسه، موثرترین تیمار علف‌کش در رابطه با وزن صدانه مربوط به تیمار مخلوط بنتازون + سوپرگلانت بود که البته با تیمار ایمازتاپیر ۰/۶ لیتر در هکتار تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

بلندترین و کوتاه‌ترین ارتفاع به ترتیب در کرت‌های کنترل کامل و عدم کنترل به میزان ۴۶/۳ و ۳۵/۱ سانتی‌متر مشاهده شد. تمام تیمارهای علف‌کش در مقایسه با تیمار شاهد کنترل کامل موجب کاهش ارتفاع بوته باقلا شد و به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد (جدول ۴). کاهش ارتفاع بوته‌های باقلا نه تنها بیانگر اثر رقابتی علف‌هرز بود، بلکه اثر بازدارندگی علف‌کش‌ها بر گیاه زراعی را نشان داد. (Khan *et al.*, 2003) گزارش کردند که کاربرد برخی از علف‌کش‌ها بر ارتفاع گیاه تأثیری ندارد، اما برخی دیگر از محققان (Marwat *et al.*, 2003; Larik *et al.*, 1999) نشان دادند که اثر علف‌کش‌های مختلف بر کاهش ارتفاع گیاه معنی‌دار است.

اثر تیمارهای آزمایش بر تعداد غلاف در بوته

مقایسه میانگین تیمارها نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود (جدول ۳). بیشترین تعداد غلاف در بوته به میزان ۱۸/۷۵ در تیمار شاهد عاری از علف‌هرز به دست آمد. سایر تیمارهای علف‌کشی نسبت به تیمار عاری از علف‌هرز تعداد غلاف کمتری در هر بوته تشکیل دادند. کمترین تعداد غلاف با کاهش ۵۳/۳ درصدی نسبت به تیمار عاری از علف‌هرز در تیمار شاهد عدم کنترل مشاهده شد (جدول ۴). مقایسه تیمارهای علف‌کش نشان داد که به استثناء تیمارهای مخلوط بنتازون + سوپرگلانت و تیمار ایمازتاپیر به میزان ۰/۶ لیتر در هکتار، در سایر تیمارها تعداد غلاف در بوته نظیر تیمار عدم

جدول ۳- آنالیز واریانس شاخص‌های مختلف رشد باقلا شامل: ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، طول غلاف، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت در مرحله بلوغ تحت تیمارهای مختلف علف‌کش‌های پس‌رویشی.

Table 3. Analysis variance of broad bean traits include of broad bean plant height (PH), broad bean leaf area index (LAI), broad bean pod length (PL), number of pod per broad bean plant (NPP), broad bean seed number per pod (SNP), broad bean 100-seed weight (HSW), broad bean grain yield (GY), broad bean biological yield (BY), broad bean harvest index (HI) at maturity under different post emergence herbicide treatments.

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	PH	شاخص سطح برگ	LAI	طول غلاف	PL	تعداد غلاف	NPP	در بوته	تعداد دانه	SNP	در غلاف	وزن صد دانه	HSW	عملکرد دانه	GY	عملکرد بیولوژیک	BY	شاخص برداشت	HI
Replication	تکرار	3	6.14 ^{ns}		0.09 ^{ns}	4.56 ^{ns}				3.56 ^{xx}		0.204 ^{ns}			0.213 ^{ns}		9278.29 ^{ns}		597639.4 ^{ns}		0.262 ^{ns}	
Herbicide	علف‌کش	6	154.66 ^{xx}		0.363 ^{xx}	21.6 ^{xx}				39.31 ^{xx}		2.57 ^{xx}			50.59 ^{xx}		1035366.7 ^{xx}		11344591.2 ^{xx}		12.21 ^{xx}	
Error	خطا	18	3.86		0.007	1.85				1.64		0.122			1.27		17008.9		418226.8		0.085	
%CV	% ضریب تغییرات		5.39		5.08	10.58				9.27		9.17			3.26		5.3		5.1		4.72	

^{ns} و ^{xx} به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۱٪

^{ns, xx} indicate non-significant and significant at the $P=0.01$ level.

جدول ۴- اثر تیمارهای علف‌کش بر وزن خشک علف‌هرز، تراکم علف‌هرز در واحد سطح، ارتفاع باقلا، شاخص سطح برگ باقلا، طول غلاف، تعداد غلاف در بوته باقلا، تعداد بندر در غلاف، وزن صد دانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت

Table 4. Influence of herbicide treatments on weed dry weight (WDW), number of weed per square (NWQ), broad bean plant height (PH), broad bean leaf area index (LAI), broad bean pod length (PL), number of pod per broad bean plant (NPP), broad bean seed number per pod (SNP), broad bean 100-seed weight (HSW), broad bean grain yield (GY), broad bean biological yield (BY), broad bean harvest index (HI).

Herbicides (Common name)	نام علف‌کش‌ها (عمومی)	وزن خشک کل علف‌هرز (گرم در متر مربع) WDW (gm ⁻²)	تعداد کل علف هرز (در متر مربع) NWQ (m ⁻²)	ارتفاع بوته (سانتیمتر) PH (cm)	شاخص سطح برگ LAI	طول غلاف (سانتیمتر) PL (cm)	تعداد غلاف در بوته NPP	تعداد بندر در غلاف SNP	وزن صد دانه (گرم) HSW (g)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) GY (kg ha ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) BY (kg ha ⁻¹)	شاخص برداشت (درصد) HI (%)
Hand weeding	وجین دستی	-	-	46.3 a	2.85 a	17.47 a	18.75 a	5.42 a	96.18 a	3239.4 a	15513.4a	20.87a
Weedy check	عدم کنترل بازگران + فنوکسپروپ-پ-تیل	347.7 a	121.05 a	35.1c	1.75 c	10.55 c	8.75 e	2.78 c	85.08 d	1494.98 c	9776.4 c	15.29 c
Basagran + Fenoxaprop-p-ethyl	بازگران + فنوکسپروپ-پ-تیل	15.03 b	82.56 b	40.3b	2.5 b	12.25 bc	15.5 b	3.78 b	88.9 c	2467.23b	12601.1b	19.58 b
Imazthapyr (0.6)	ایمازتایپر (۰/۶)	4.49 b	40.74 c	43.9 b	2.47 b	14.2 b	15.25 bc	3.91 b	92.83 b	2545.5 b	13184.4 b	19.32 b
Imazthapyr (0.4)	ایمازتایپر (۰/۴)	12.4 b	106.83 b	40.5 b	2.25 bc	12.31bc	13.5 cd	3.72 b	91.96 b	2408.97 b	12527.6 b	19.22 b
Basagran + Haloxyp-R-methyl	بازگران + هالوکسی-آر-متیل	4.93 b	53.05 c	41.5 b	2.5 b	11.53 c	12 d	3.5 b	92.86 b	2403.18 b	12256.1 b	19.61 b
Basagran + Sethoxydim	بازگران + ستوکسیدیوم	4.8 b	41.23 c	41.2 b	2.53 b	11.61 c	13d	3.52b	89.61 c	2540.51 b	12989.4 b	19.42 b
CV%	ضریب تغییرات	8.51	12.47	4.81	6.23	3.62	2.78	2.11	4.53	6.39	6.13	4.12

حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ غیر معنی دار هستند.
The same letters in each column indicate non-significant at the $P=0.05$ level.

اثر تیمارهای آزمایش بر تعداد غلاف در بوته

عملکرد دانه در کلیه تیمارهای علف‌کشی یکسان بود و به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین و بیشترین عملکرد با ۲۴۰۳ و ۲۵۴۵ کیلوگرم در هکتار به ترتیب مربوط به تیمارهای بنتازون+سوپرگلانت و ایمازتاپیر ۰/۶ لیتر در هکتار بود (جدول ۴). عملکرد دانه در تیمارهای عدم کنترل و کنترل کامل به ترتیب ۱۴۹۴/۹۸ و ۳۲۳۹ کیلوگرم در هکتار به دست آمد. از آنجاکه بیشترین عملکرد حاصله از کاربرد تیمارهای علف‌کش تنها به ۷۸ درصد از حداکثر عملکرد (مربوط به تیمار شاهد کنترل کامل) دست یافت، این احتمال وجود دارد که با توسعه برنامه‌های مدیریت کارآمدتر علف‌هرز بتوان عملکرد را بهبود بخشید. عملکرد بالاتر در تیمارهای علف‌کشی در مقایسه با تیمار شاهد عدم کنترل علف‌هرز، نتیجه کنترل نسبی علف‌های هرز در این تیمارها است. این نتایج با یافته Baghestani et al, (2008) و Chhokar et al, (2008)، مبنی بر این که علف‌کش‌ها موجب افزایش قابل توجه بهره‌وری محصول در رابطه با کنترل طیفی از علف‌های هرز می‌شوند، مطابقت دارد.

Behdarvandi & Modhaj (2007) گزارش دادند که کنترل علف‌های هرز و کاهش تراکم آن‌ها و در نتیجه کاهش رقابت با گیاه زراعی به واسطه تابش و توزیع مناسب نور در لایه‌های مختلف تاج پوشش می‌تواند موجب افزایش غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه شود. نتایج مشابهی در پژوهش‌های دیگر محققان گزارش شده است (Yadav et al., 1995; Miri & Rahimi, 2009).

اثر تیمارهای آزمایش بر عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت

نظیر عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک در کلیه تیمارهای پس‌رویشی علف‌کش‌ها یکسان بود و تفاوت آماری معنی‌داری

منابع

1. Al-Thahabi, S.A., Yasin, J.Z., Abu-Irmaileh, B.E., Haddad, N.I., and Saxena, M.C. 1994. Effect of weed removal on productivity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Med.) in a Mediterranean environment. *Journal of Agronomy and Crop Science* 172: 333-341.
2. Arnold, R.N., Murray, M.W., Gregory, E.J., and Smeal, D. 1993. Weed control in pinto beans (*Phaseolus vulgaris*) with imazethapyr combinations. *Weed Technology* 7: 361-364.
3. Baghestani, M.A., Zand, E., Soufizadeh, S., Beheshtian, M., and Haghighi A. 2008. Study on the efficacy of weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) with tank mixtures of grass herbicides with broadleaved herbicides. *Crop Protection* 27: 104-111. (In Persian).
4. Bauer, T.A., Renner, K.A., Penner, D., and Kelly, J.D. 1995. Pinto bean (*Phaseolus vulgaris*) varietal tolerance to imazethapyr. *Weed Science* 43: 417-424.
5. Behdarvandi, B., and Modhaj, A. 2007. Integrated control (chemical and mechanical) of rapeseed weeds in southern Iran climate. *Research Journal of Agricultural Science* 13: 163-170.

بین آن‌ها مشاهده نشد. کمترین و بیشترین عملکرد بیولوژیک با ۱۲۲۵۶/۱ و ۱۳۱۸۴/۴ کیلوگرم در هکتار به ترتیب در تیمارهای مخلوط بنتازون+سوپرگلانت و ایمازتاپیر ۰/۶ لیتر در هکتار مشاهده شد (جدول ۴). در تیمار شاهد عدم کنترل و کنترل کامل سراسر فصل عملکرد بیولوژیک به ترتیب ۹۷۷۶/۴ و ۱۵۵۱۳/۴ کیلوگرم در هکتار به دست آمد. اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص برداشت معنی‌دار بود (جدول ۳). هرچند که شاخص برداشت به دست آمده در بین تیمارهای علف‌کش یکسان بود و به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد، با این حال بیشترین و کمترین مقدار به میزان ۲۰/۸۷ و ۱۵/۲۹ به ترتیب در تیمارهای شاهد کنترل کامل و عدم کنترل به دست آمد (جدول ۴). سایر تحقیقات نشان داده که تیمارهای ترکیبی از علف‌کش‌ها مثل بنتازون (Burnside et al., 1994) و ایمازتاپیر (Arnold et al., 1993) قادرند با کنترل دامنه وسیعی از علف‌های هرز در زراعت حبوبات، مانع از کاهش عملکرد شوند.

نتیجه‌گیری

علف‌کش ایمازتاپیر به میزان ۰/۶ لیتر در هکتار مؤثرترین تیمار در مقایسه با سایر تیمارهای علف‌کشی در خصوص کنترل علف‌های هرز عمل کرد، به طوری که تراکم و زیست کل علف‌های هرز را در مقایسه با تیمار عدم کنترل به ترتیب به میزان ۶۶/۲ و ۹۸/۷ درصد کاهش داد. از طرفی کلیه تیمارهای علف‌کش اعمال شده در این آزمایش موجب افزایش عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه با قلا در مقایسه با تیمار شاهد عدم کنترل شدند و از این حیث تفاوت آماری معنی‌داری بین آن‌ها یافت نشد.

6. Blackshaw, R.E., and Esau, R. 1991. Control of annual broadleaf weeds in pinto beans (*Phaseolus vulgaris*). *Weed Technology* 5: 532-538.
7. Blackshaw, R.E., Molnar, J.L., Muendel, H.H., Saindon, G., and Li, X. 2000. Integration of cropping practices and herbicides improves weed management in dry bean (*Phaseolus vulgaris*). *Weed Technology* 14: 327-336.
8. Burnside, O.C., Ahrens, W.H., Holder, B.J., Wiens, M.J., Johnson, M.M., and Ristau, E.A. 1994. Efficacy and economics of various mechanical plus chemical weed control systems in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *Weed Technology* 8: 238-244.
9. Chhokar, R.S., Singh, S., and Sharma, R.K. 2008. Herbicides for control of isoproturon-resistant little seed canary grass (*Phalaris minor*) in wheat. *Crop Protection* 27: 719-726.
10. Chikoye, D., Weise, S.F., and Swanton, C.J. 1995. Influence of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) time of emergence and density on white bean (*Phaseolus vulgaris*). *Weed Science* 43: 375-380.
11. Gepts, P., Aragao, F., de Barros, E., Blair, M.W., and Brondani, R. 2008. Genomics of *Phaseolus* Beans, a Major Source of Dietary Protein and Micronutrients in the Tropics. In: ., Moore and R. Ming (Eds.). *Genomics of Tropical Crop Plants*. P. Springer, Berlin, Germany. p: 113-143.
12. Khajehpour, M. 2004. *Industrial Plants*. Esfahan Jahad Daneshgahi Press, Tehran, Iran. (In Persian). P: 320
13. Khan, I.A., Hassan, G., and Ihsanullah, S. 2003. Efficacy of pre-emergence herbicides on the yield and yield components of canola. *Asian Journal of Plant Science* 2: 251-253.
14. Larik, A.S., Rajput, M., Kakar, A.A., Bukhari, S.S., and Shaikh, M.A. 1999. Effect of weedicide on character association in *Brassica juncea* and *Eruca sativa*. *Journal of Agriculture* 15: 198-202.
15. Malik, V.S., Swanton, C.J., and Michaels, T.E. 1993. Interaction of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars, row spacing and seeding density with annual weeds. *Weed Science* 41: 62-68.
16. Marwat, K.B., Hussain, Z., Khan, N.I., and Gul, B. 2003. Impact of weed management on rapeseed. *Pakistan Journal of Weed Science Research* 9: 207-214.
17. Miri, H.R., and Rahimi, Y. 2009. Effects of combined and separate herbicide application on rapeseed and its weeds in southern Iran. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 257-260.
18. OMAF. 2004. *Guide to Weed Control*. Ontario Ministry of Agriculture and Food, Toronto, Ontario, Canada, p: 348.
19. OMAFRA. 2004. *Guide to Weed Control*. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Toronto, Ontario, p: 347.
20. Smitchger, J.A., Burke, I.C., and Yenish, J.P. 2012. The critical period of weed control in lentil (*Lens culinaris*) in the Pacific Northwest. *Weed Science* 60: 81-85.
21. Urwin, C.P., Wilson, R.G., and Mortensen, D.A. 1996. Response of dry edible bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars to four herbicides. *Weed Technology* 10: 512-518.
22. Vencill, W.K. 2002. *Herbicide Handbook*. 8th Ed., Weed Science Society of America, Champaign, IL. ISBN-13: 9781891276330, p. 493.
23. Yadav, R.P., Shrivastava, U.K., and Yadav, K.S. 1995. Yield and economic analysis of weed-control practices in Indian mustard (*Brassica juncea*). *Indian Journal of Agronomy* 40: 122-124.

Efficacy evaluation of some herbicides for weed management and yield attributes in broad bean (*Vicia faba*)

Boali¹, Z. & Saeedipour^{2*}, S.

1. MSc. Student, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Shoushtar Branch, Shoushtar, Iran

2. Department of Agronomy, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Received: 27 April 2016

Accepted: 31 May 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v8i2.55277

Introduction

Broad bean (*Vicia faba*, L.) is grown and consumed principally in developing countries in Latin America, Africa, and Asia. Farmers often consider weeds to be the major biological constraint to growing legume crops successfully. Chemical control of weeds became widespread in the world because it brings about rapid and desirable control of weeds; and today chemical weed control is one of the most popular methods of controlling weeds. Weed interference in dry bean can reduce seed yield as much as 83%. There is limited number of post emergence herbicides available for broad bean production. More research is needed to identify POST herbicides that provide broadleaves weed control in broad beans. The objectives of this study were to evaluate the efficacy of some broadleaved herbicides applied POST at the proposed manufacturer's recommended rate and to assess broad bean yield response to these herbicides since no information is available in the literature on these chemicals.

Materials & Methods

Field experiment was conducted in 2011-2012 at the Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Iran (32° 3' N, 48° 50' E). The experiment was performed in randomized complete block design with four replications. Treatment consisted of 1) Basagran (bentazon) SL 48% 1.5 Lha⁻¹ + Haloxyp-R-methyl (super gallant) EC 10.8% 0.6 Lha⁻¹ 2) Bentazon SL 48% 1.5 Lha⁻¹ + Sethoxydim (nabo-S) OEC 12.5% 1.5 Lha⁻¹ 3) Bentazon SL 48% 1.5 Lha⁻¹ + Fenoxaprop-p-ethyl (whip super) EC 12% 0.7 Lha⁻¹ 4) Imazthapyr(pursuit) SL 10% 0.6 Lha⁻¹ 5) Pursuit SL 10% 0.4 applied POST, with two control plots weed-free and weed-infested throughout the crop cycle, respectively. Plots were maintained weed free by cultivation and hand hoeing as required to eliminate the confounding effect of weed interference. Bean shoot dry weight was determined by cutting plants at the soil surface from 1m of row per plot. Plants were dried at 75 °C to constant moisture and then weighed. Broad bean height was measured for 10 plants in each plot 5 WAT and averaged. Broad bean was considered mature when 90% of the pods in the untreated control had turned from green to a golden color. Beans were harvested from each plot, weight and seed moisture content were recorded, and seed yields were adjusted to 13% moisture. Data were analyzed as an RCBD using PROC MIXED in SAS 9.2. The comparison of means was conducted by Duncan method at 1 and 5% probability level.

Results & Discussion

Herbicide treatments applied to broad bean resulted in significant ($P \leq 0.05$) reduction in weed biomass and density relative to the untreated control (Table1, 2). The blend of Bentazon+Nobo-S and Pursuit with the dose of 0.6 Lha⁻¹ has been more successful in the control of weed than other treatments, and has decreased the weed biomass by over %98.7 in compare to weedy check. Other studies have found that 50 g ai ha⁻¹ of imazethapyr (pursuit) applied post emergence will provide season-long control of broad leaf weed in pinto

*Corresponding Author: saeeds79@gmail.com, Mobile: 09163171978

beans. There was no statistical difference in weed control between pursuit applied alone or tank-mixed of Bentazon with Nobo-S (Table 3). The least level of control were observed in blend of Bentazon+Whip super and pursuit with the dose of 0.4 Lha^{-1} (Table 4). Weed management practitioners must adjust pursuit herbicide doses based on weed species composition. Among experimental treatments there was a significant difference in terms of impact on the density of weed (Table 1). Mean comparison of treatments showed that pursuit with the dose of 0.6 Lha^{-1} decreased the density of weed by 66.2%. Seed yield was equal in all POST herbicide treatments, and there was no statistical difference in seed yield among herbicide treatments. The lowest and highest seed yield recorded 2403 and 2545 kg ha^{-1} in tank-mixed of Bentazon+Super gallant and pursuit with the dose of 0.6 Lha^{-1} , respectively (Table 4). In the weedy treatment seed yield was $1494.9 \text{ kg ha}^{-1}$, and on hoeing treatment it was 3239 kg ha^{-1} (Table 4). Because the highest yield of herbicide treatments was only 78% of the hoeing treatment, it is likely that more efficient weed management programs can be developed. Higher seed yield in herbicide treated plots in compare to weedy check, may be an outcome of efficient weed control achieved there. These results are in conformation with those of some researchers who reported that herbicides offer sizeable increase in crop productivity corresponding to their weed control spectrum.

Conclusions

It is concluded that the most effective herbicide treatment was pursuit with the dose of 0.6 Lha^{-1} , which provided maximum reduction in total weed dry matter. However, all herbicide treatments increased broad bean biological and seed yield as compared with the weedy check.

Key words: Imazethapyr herbicide, Seed yield, Weed dry weight

پژوهش‌های حوالبات ایران

دوفضلنامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

مشخصات داوران جلد ۸ شماره ۲، نیمه دوم ۱۳۹۶، شماره پیاپی: ۱۶
(به ترتیب حروف الفبا)

دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان	احتشامی	سیدمحمدرضا	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	ایزدی	ابراهیم	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد	بیابانی	عباس	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان	پزشکیور	پیام	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد	تدین	محمودرضا	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	جهان	محسن	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	حاج‌محمدنیا قالیباف	کمال	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	خراسانی	رضا	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی	دُرّی	حمیدرضا	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	رضوانی‌مقدم	پرویز	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل	رمرودی	محمود	دکتر
پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد	شکوهی‌فر	فرهاد	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز	عدالت	محسن	دکتر
دانشگاه پیام‌نور سبزوار	عزیزی	الهام	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد شیروان	عظیم‌زاده	مرتضی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود	غلامی	احمد	دکتر
دانشگاه شهیدباهنر کرمان	فرحبخش	حسن	دکتر
دانشگاه تربت حیدریه	فیضی	حسن	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز	کامگار حقیقی	علی‌اکبر	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان	کانونی	همایون	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	گلدانی	مرتضی	دکتر
دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد	گنجعلی	علی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	لکزیان	امیر	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	مرعشی	سیدحسن	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	مشتاقی	نسرین	دکتر
پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد	نباتی	جعفر	دکتر
پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد	وصال	سعیدرضا	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه	ویسی	مژگان	دکتر



پژوهش‌های حبوبات ایران

دوفصلنامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

فُرْم اشتراک

خواهشمند است فُرْم زیر را پس از تکمیل، به نشانی زیر ارسال فرمایید:

مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی
دفتر نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۶۵۳، کُد پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴

مشخصات متقاضی: (لطفاً با ذکر جزئیات، مشخص فرمایید)

نام: (وزارت / سازمان / مؤسسه / شرکت / دانشگاه / دانشکده / کتابخانه / بخش خصوصی / شخصی / سایر)

نشانی دقیق پستی:

.....

تلفن (با کُد شهرستان):

تلفن همراه:

نمابر:

نحوه اشتراک:

مایل به اشتراک نشریه از تاریخ تا می‌باشم.

بهای هر شماره از نشریه، ۵۰۰۰ ریال می‌باشد. خواهشمند است مبلغ مربوط به تعداد شماره‌های مورد نیاز را به حساب شماره ۹۹۶۵۴ به نام عواید اختصاصی پژوهشکده علوم گیاهی نزد بانک تجارت شعبه دانشگاه فردوسی واریز نموده و فیش آن را همراه با فُرْم، به دفتر نشریه ارسال فرمایید. هزینه‌های پستی به‌عهده متقاضی می‌باشد.

امضاء:

تاریخ:

Title	Author(s)	Page
• The effect of foliar application of Zinc oxide in common and nanoparticles forms on some growth and quality traits of Mungbean (<i>Vigna radiata</i> L.) under drought stress conditions	Makarian, H., Shojaei, H., Damavandi, A., Nasiri Dehsorkhi, A. & Akhyani, A.	166
• Bioinformatics analysis and isolation of beta-phaseolin promoter from beans (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Choupani, E., Bagheri, Kh. & Maleki, B.	181
• Effect of replacement intercropping ratios of sweet corn with bean varieties on yield and yield components	Asadi, G.A., Khorramdel, S., Shahriary, R., Ranjbar, F. & Aghhavani Shajari, M.	192
• Efficacy evaluation of some herbicides for weed management and yield attributes in broad bean (<i>Vicia faba</i>)	Boali, Z. & Saeedipour, S.	205

Iranian Journal of Pulses Research

List of Articles
Vol. 8, No. 2, 2017, S. No.: 16

Title	Author(s)	Page
• Evaluation and comparison of different economic and environmental scenarios for Bean (<i>Phaseolous vulgaris</i> L.) production via optimization of water superabsorbent, humic acid and cattle manure application rate	Jahan, M., Amiri, M.B. & Noorbakhsh, F.	10
• The pattern of CBF and P5CS genes expression under freezing stress and effects of cold acclimation on free proline changes in chickpea (<i>Cicer arietinum</i>)	Ghasemi, R., Bagheri, A., Moshtaghi, N. & Shokouhi Far, F.	31
• Improve the quality of two cultivars of bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) with using Phosphate and Zinc biofertilizers	Mohammadi, M., Khavazi, K., Malakouti, M.J. & Rejali, F.	44
• Study of nano particle TiO ₂ spraying on chlorophyll, yield and yield components of lentil (<i>Lens culinaris</i> Medik)	Nouri, H., Moaveni, P. & Soltaanieh, M.	57
• Evaluation of traits and drought tolerance in common bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) genotypes under well-watered and drought stress conditions	Gharajedaghi, F., Bihamta, M.R., Peyghambari, S.A. & Rezaeinia, M.	69
• Optimization of genetic transformation in Lentil (<i>Lens culinaris</i> Medik.) using <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Zaker Tavallaie, F., Bagheri, A., Ghareyazie, B. & Sharma, K.K.	84
• The effect of wheat residue management and nitrogen levels on yield and yield component of mungbean (<i>Vigna radiate</i>)	Khamady, F., Mesgarbashi, M., Hassibi, P., Farzaneh, M. & Enayatzamir, N.	96
• Evaluation of the effect of chickpea seeds inoculation with rhizobium, arbuscular mycorrhiza and like-endo mycorrhiza on yield and yield components of chickpea genotypes (<i>Cicer arietinum</i> L.)	Arshadi, M.J., Parsa, M., Lakzian, A. & Kafi, M.	109
• The effect of ultrasonic waves and seed priming in conjunction with weed management on yield and yield components of cowpea (<i>Vigna sinensis</i> L.)	Nasiri Dehsorkhi, A., Makarian, H., Gholipoor, M. & Abbasdokht, H.	126
• Effect of irrigation hult and humic acid foliar application on agronomic, qualitative and physiological characteristics in red bean cultivar D ₈₁₀₈₃	Ghadimian, T., Madani, H. & Gomarian, M.	141
• Evaluation and identification of pinto bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) genotypes suitable for low Input farming systems based on stress tolerance indices	Ghadiry, A., Rezvani Moghaddam, P., Bagheri, A., Ghorbani, R. & Beheshti, A.R.	155

Iranian Journal of Pulses Research

A Biannually Scientific Journal

ISSN 2008-725X

Research Center for Plant Sciences
Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 8(2) December 2017 S.No.16

- Evaluation and comparison of different economic and environmental scenarios for Bean (*Phaseolous vulgaris* L.) production via optimization of water superabsorbent, humic acid and cattle manure application rate
Jahan, M., Amiri, M.B. & Noorbakhsh, F.
- The pattern of *CBF* and *P5CS* genes expression under freezing stress and effects of cold acclimation on free proline changes in chickpea (*Cicer arietinum* L.)
Ghasemi, R., Bagheri, A., Moshtaghi, N. & Shokouhi Far, F.
- Improve the quality of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with using Phosphate and Zinc biofertilizers
Mohammadi, M., Khavazi, K., Malakouti, M.J. & Rejali, F.
- Study of nano particle TiO₂ spraying on chlorophyll, yield and yield components of lentil (*Lens culinaris* Medik.)
Nouri, H., Moaveni, P. & Soltaanieh, M.
- Evaluation of traits and drought tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes under well-watered and drought stress conditions
Gharajedaghi, F., Bihamta, M.R., Peyghambari, S.A. & Rezaeinia, M.
- Optimization of genetic transformation in Lentil (*Lens culinaris* Medik.) using *Agrobacterium tumefaciens*
Zaker Tavallaie, F., Bagheri, A., Ghareyazie, B. & Sharma, K.K.
- The effect of wheat residue management and nitrogen levels on yield and yield component of mungbean (*Vigna radiate*)
Khamady, F., Mesgarbashi, M., Hassibi, P., Farzaneh, M. & Enayatzamir, N.
- Evaluation of the effect of chickpea seeds inoculation with rhizobium, arbuscular mycorrhiza and like-endo mycorrhiza on yield and yield components of chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.)
Arshadi, M.J., Parsa, M., Lakzian, A. & Kafi, M.
- The effect of ultrasonic waves and seed priming in conjunction with weed management on yield and yield components of cowpea (*Vigna sinensis* L.)
Nasiri Dehsorkhi, A., Makarian, H., Gholipoor, M. & Abbasdokht, H.

(Complete list, inside the journal...)

