

نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران

ISSN 2008-725X

جلد ۵، شماره ۲، نیمه دوم
۱۳۹۳

دوفصلنامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم کیمی و انسکاوه فردوسی مشهد

جواد حمزه‌ی، سعید نجاری،
فرشید صادقی و محسن سیدی

آرش باکمهر، فرید شکاری و
مهندی راستگو

علی مرتضی چراغی، نورعلی ساجدی
و مسعود گماریان

هانیه فیروزی، همت‌الله پیردشتی و
سید جابر حسینی

سارا پرنده، غلامرضا زمانی، محمدحسن
سیاری و محمد قادر قادری

سعیدرضا حسینزاده، منیره چنیانی و
اعظم سلیمی

راضیه کابنده‌نظامی و حمیدرضا بلوجی

مریم پیرزاده مقدم، عبدالرضا باقری، سعید
ملک‌زاده شفارودی و علی گنجعلی

سمیرا احمدی، عصمت مهدیخانی مقدم و
سارة بقایی داوری

حمیدرضا دری، محمدرضا لک و
بهروز اسدی

زهراء گلستانی کلات، غلامحسین مروج
و مجید عزیزی ارانی

امین حسین‌زاده، الناز میلانی، امیرحسین
الهامی‌راد و محمدحسین حداد خداپرست

• اثر محلول‌پاشی نانوکلات آهن و تلکیح با باکتری مژوزیزوبیوم بر گره‌زایی ریشه، رشد
و عملکرد نخود در شرایط دیم

• اثر پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید روی برخی صفات فتوستنتزی لوبيا چشم‌بلبلی
تحت تنش کم‌آبی در مرحله گلدهی

• اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و
کیفی نخود در شرایط دیم

• تأثیر پیش‌تیمار باکتری‌های محرك رشد (PGPR) بر برخی پارامترهای رشدی و
رنگدانه‌های فتوستنتزی دو رقم گیاه لوپیاسبز (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت
تنش شوری

• ارزیابی اثر سیلیسیم بر صفات فیزیولوژی، کیفی و کمی لوبيا (L.)
در تنش شوری

• بررسی اثر متانول بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی نخود (*Cicer arietinum* L.)
تحت تنش خشکی

• واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاه عدس (*Lens culinaris* Medik) به تنش شوری و
 محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید

• تحلیل‌های آماری چندمتغیره برای صفات نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط
آبیاری محدود

• شناسایی نماتدهای پارازیت گیاهی جمع آوری شده از مزارع حبوبات در استان
خراسان شمالی

• بررسی پایداری ژنوتیپ‌های لوبيا به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی با عامل
Xanthomonas axonopodis pv. *phaseoli* با روش‌های رگرسیونی، اسی
(AMMI) و مویر (Muir)

• بررسی اثرات دور کنندگی انسان گیاهان اسطوخودوس و آویشن‌شیرازی روی سوسک
چهارنقطه‌ای حبوبات و ارتباط آن با ترکیبات تشکیل‌دهنده انسان‌ها

• ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و ممانعت‌کنندگی فیلم خوارکی بر پایه ایزوله پروتئین
خلر (*Lathyrus sativus*) با استفاده از روش سطح پاسخ



نشریه پژوهش های حبوبات ایران

دوفصلنامه علمی - پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

با مجوز شماره ۱۳۸۸/۰۸/۲۵ مورخ ۱۳۸۸/۰۸/۲۵ از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی
و درجه علمی پژوهشی به شماره ۱۳۸۹/۰۳/۱۷ مورخ ۱۳۸۹/۰۳/۱۷ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

جلد ۵، شماره ۲، نیمة دومن

صاحب امتیاز:

دکتر محمد کافی

دکتر عبدالرضا باقری

مهندس حسن پرسا

مدیر اجرایی:

هیئت تحریریه:

احمد ارزانی

هادی استوان

علیرضا افشاری فر

نادعلی بابائیان جلودار

عبدالرضا باقری

غلامحسین حق نیا

سیدحسین صباح پور

محمد کافی

سرالله گالشی

محمد گلوی

علی گنجعلی

ناصر مجذوب حسینی

حسین معصومی

احمد معینی

احمد نظامی

مهند زهراء طاهری

همکاران این شماره:

حامد طلاچیان - سیدمهدی میرشاهولای - رحمان اسدی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

۸۰ نسخه

ویراستار:

ناشر:

چاپ:

شمارگان:

این نشریه در قالب تفاهمنامه همکاری میان دانشگاه های صنعتی اصفهان، تربیت مدرس، شهید باهنر کرمان، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آزاد اسلامی واحد شیراز و علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و با هدف گسترش همکاری های علمی و پژوهشی منتشر می شود.

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

• بانک اطلاعات نشریات کشور
<http://www.magiran.com> • magiran
iranian magazines reference

• پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی
<http://fa.journals.sid.ir> • SID

• پایگاه استنادی علوم جهان اسلام
<http://www.isc.gov.ir> • ISC
Scopus

نشانی:

مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی
دفتر نشریه پژوهش های حبوبات ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۴۸۹۷۴-۱۶۵۳
تلفن: ۰۵۱ ۳۸۸۰۴۸۰۱، نمبر: ۰۵۱ ۳۸۸۰۷۰۲۴
۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴

پست الکترونیک: ijpr@um.ac.ir

تارنما: <http://rcps.um.ac.ir> و <http://ijpr.um.ac.ir/index.php/ijpr>

نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران

فهرست مقالات

جلد ۵، شماره ۲۸، نیمة دوم ۱۳۹۳

عنوان مقاله	نوبسنده(گان)	صفحه
• اثر محلول‌پاشی نانوکلات آهن و تلقیح با باکتری مژوریزوبیوم بر گره‌زایی ریشه، رشد و عملکرد نخود در شرایط دیم	جواد حمزه‌ئی، سعید نجاری، فرشید صادقی و محسن سیدی	۹
• اثر پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید روی برخی صفات فتوسنتزی لوبيا چشم‌بلبلی تحت تنش کم‌آبی در مرحله گلدهی	آرش پاک‌مهر، فرید شکاری و مهدی راستگو	۱۹
• اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و کیفی نخود در شرایط دیم	علی‌مرتضی چرافی، نورعلی ساجدی و مسعود گماریان	۳۱
• تأثیر پیش‌تیمار باکتری‌های محرك رشد (PGPR) بر برخی پارامترهای رشدی و رنگدانه‌های فتوسنتزی دو رقم گیاه لوبياسبز (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) تحت تنش سوری	هانیه فیروزی، همت‌الله پیردشتی و سید‌جبار حسینی	۴۳
• ارزیابی اثر سیلیسیم بر صفات فیزیولوژی، کیفی و کمی لوبيا (<i>Phaseolus vulgaris</i>) در تنش سوری	سارا پرنده، غلامرضا زمانی، محمدحسن سیاری و محمدقدار قادری	۵۷
• بررسی اثر متابول بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود (<i>Cicer arietinum</i> L.) تحت تنش خشکی	سعیدرضا حسین‌زاده، منیره چنیانی و اعظم سلیمی	۷۱
• واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاه عدس (<i>Lens culinaris</i> Medik) به تنش سوری و محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید	راضیه کایدنظامی و حمیدرضا بلوجی	۸۳
• تحلیل‌های آماری چندمتغیره برای صفات نخود (<i>Cicer arietinum</i> L.) در شرایط آبیاری محدود	مریم پیرزاده مقدم، عبدالرضا باقری، سعید ملک‌زاده شفارودی و علی گنجعلی	۹۹
• شناسایی نماتدهای پارازیت گیاهی جمع‌آوری شده از مزارع حبوبات در استان خراسان شمالی	سمیرا احمدی، عصمت مهدیخانی مقدم و ساره بقایی راوری	۱۱۱
• بررسی پایداری ژنوتیپ‌های لوبيا به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی با عامل <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> با روش‌های رگرسیونی، امی (AMMI) و مویر (Muir)	حمیدرضا دری، محمدرضا لک و بهروز اسدی	۱۱۹
• بررسی اثرات دورکنندگی انسان گیاهان استوخودوس و آویشن‌شیرازی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و ارتباط آن با ترکیبات تشکیل‌دهنده انسان‌ها	زهراء گلستانی کلات، غلامحسین مروج و مجید عزیزی ارانی	۱۳۱
• ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و ممانعت‌کنندگی فیلم خوراکی بر پایه ایزوله پروتئین خلر (<i>Lathyrus sativus</i>) با استفاده از روش سطح پاسخ	امین حسین‌زاده، الناز میلانی، امیرحسین الهامی‌راد و محمدحسین حداد خداپرست	۱۳۹

سخن سردبیر

حبوبات به عنوان یکی از مهمترین منابع گیاهی غنی از پروتئین، دومین منبع مهم غذایی انسان پس از غلات، به شمار می‌رond. این گیاهان با داشتن قابلیت تثبیت زیستی نیتروژن، نقش در خور توجهی در بهبود حاصلخیزی خاک دارند. حبوبات در تناوب با بسیاری از گیاهان زراعی، کشت و کار می‌شوند و بدین ترتیب با تنوع بخشی 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 کم‌نهاده 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 به دست 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. هر چند 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 کشت بعضی محصولات زراعی مانند غلات و محصولات نقدینه‌ای، جایگزین کشت حبوبات در اراضی مرغوب شده و لذا کشت حبوبات، بیش از پیش به مناطق حاشیه‌ای و کم‌بازده رانده شود. این وضعیت، چالشی بزرگ را فراوری 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، به صورت ویژه‌ای پرداخته شود. نکته مهمی که در طراحی و اجرای برنامه‌های تحقیقات حبوبات باید همواره مدد نظر باشد، قرار داشتن کشور در وضعیت طبیعی و اقلیمی خشک است؛ به طوری که بیش از ۹۰ درصد از تولید حبوبات در کشور ما در شرایط دیم با بارش‌های بسیاراندک انجام می‌شود. بدین ترتیب، انتباط با این شرایط خشک ضمن حفظ پایداری تولید، به عنوان یکی از اصول بنیادین در تدوین و اتخاذ سیاست‌ها و خط‌مشی‌های تحقیقاتی در رابطه با حبوبات، مدد نظر قرار بگیرد.

به هر حال، تعیین یک راهبرد واحد، هماهنگی و انسجام بین مراکز علمی و تحقیقاتی و نیز تبادل اطلاعات و تجارت به دست آمده بین محققان در مراکز مختلف، عواملی هستند که ما 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 علمی‌پژوهشی "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.



نشریه پژوهش های حبوبات ایران

و فصلنامه علمی - پژوهشی

پژوهشکده علوم کیمی دانشگاه فردوسی مشهد

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

الف - معرفی نشریه

«پژوهش های حبوبات ایران» نشریه ای است با درجه علمی پژوهشی که به وسیله پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب تفاهمنامه همکاری با شیش دانشگاه کشور شامل دانشگاه های صنعتی اصفهان، تربیت مدرس، شهید باهنر کرمان، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به تعداد دو شماره در سال انتشار می یابد. این نشریه تخصصی، نتایج تحقیقات حبوبات را در زمینه های مختلف پژوهشی، منتشر می کند. منظور از حبوبات، بقولات مهم زراعی شامل خود، عدس، انواع لوبیا، ماش، باقلاء، نخود فرنگی، دال عدس و خلر است.

ب - فراخوان و شرایط پذیرش مقاله

ب-۱- مقالات باید نتیجه پژوهش های 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 پژوهش های حبوبات ایران در سامانه یکپارچه مدیریت نشریه های علمی دانشگاه فردوسی مشهد به نشانی <http://jm.um.ac.ir/index.php/IJPR> خواهد بود.

ب-۲- نویسنده (گان) طی تعهدنامه ای، ضمن اعلام ارسال مقاله با ذکر عنوان، رعایت اخلاق پژوهشی و نیز اصول اخلاقی نشر را ابراز می نمایند. این تعهدنامه باید به امضای نویسنده مسئول و نیز یکایک سایر نویسنده گان مقاله، رسیده و پس از اسکن، از طریق سامانه اینترنتی نشریه در بخش بارگذاری فایل های 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 به زبان انگلیسی نیز خواهند بود.

ج - راهنمای تهیه و ارسال مقاله

ج-۱- روش نگارش

متن مقاله باید در محیط نرم افزار MS-Office Word 2007 با ابعاد A4 با فاصله ۱/۵ بین خطوط با قلم فارسی B Nazanin و قلم انگلیسی Times New Roman اندازه ۱۲ و ۱۱ تایپ شود. لازم است تمام سطرهای متن مقاله، به صورت ادامه دار (Continuous) شماره گذاری (Line numbering) شوند. همه صفحه های مقاله باید دارای شماره بوده و تعداد آن از ۲۰ تجاوز نکند. هر گونه شکل، جدول و فرمول نیز به صورت واضح به همین نرم افزار 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-۱-۲- در فایل صفحه مشخصات، موارد زیر باید به‌دققت به هردو زبان فارسی و انگلیسی قید گردند: عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی نگارنده(گان)، درجه علمی، عنوان شغلی، محل خدمت، آدرس دقیق پستی، پست الکترونیک، تلفن ثابت و تلفن همراه. چنانچه مقاله توسط بیش از یک‌نفر 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 راهنمای 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، سپاسگزاری (در صورت لزوم)، فهرست منابع و چکیده انگلیسی باشد. در اولین صفحه، عنوان مقاله بدون هرگونه ذکر نام و مشخصات نویسنده(گان)، درج شود. عنوان باید خلاصه، روشن و بیان‌کننده موضوع پژوهش بوده و از ۲۰ کلمه تجاوز نکند. چکیده، حداکثر در ۲۵۰ کلمه نوشته شده و همه آن در یک پاراگراف تنظیم شود. چکیده با وجود اختصار باید محتوای مقاله و بر جسته‌ترین 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 حتی المقدور در چکیده مقاله از آنها ذکری بهمیان نیامده باشد.

ج-۲-۴- در مقدمه، باید سوابق پژوهشی مربوط به موضوع تحقیق، توجیه ضرورت و نیز اهداف تحقیق، به‌خوبی ارائه شوند.
ج-۲-۵- مواد و روش‌ها باید کاملاً گویا و روشن بوده و در آن، مشخصات محل و نحوه اجرای آزمایش همراه با روش گردآوری داده‌ها و پردازش و تحلیل آنها با ذکر منابع، به‌روشنی ارائه شود. در صورت کاربرد معادلات ریاضی، باید همه اجزای معادله به‌طور 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 توازن 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. این عناوین باید گویایی کامل نتایج ارائه شده در جدول یا شکل بوده و همه اطلاعات و تعاریف لازم را شامل شوند، به‌طوری‌که نیاز به مراجعه به متن مقاله نباشد. ترجیمه انگلیسی عنوان‌ها و زیرعنوان‌های جداول و شکل‌ها و نیز واحدها و توضیحات عالیم و اختصارات، در زیر نوشته فارسی آنها درج شود. ساختار جداول به صورت چپ‌چین تنظیم شده و محتوای آنها (اعداد) تنها به انگلیسی نوشته شود. شکل‌ها کاملاً به انگلیسی تهیه شوند. شکل‌ها و جدول‌ها بدون قادر باشند و حروف، عناوین و علائم به کاررفته در آنها، کاملاً خوانا و تفکیک‌پذیر باشند. شکل‌ها و جدول‌ها، هر کدام به‌طور مستقل دارای شماره ترتیبی مستقل باشند و حتماً در داخل متن به آنها ارجاع داده شود. برای بیان اوزان، واحدها و مقادیر از سیستم متريک استفاده شود.

ج-۲-۷- در صورت لزوم، جهت تشکر از شخص یا سازمان، این مطلب با عنوان "سپاسگزاری" بعد از نتایج و بحث آورده شود.
ج-۲-۸- در بخش منابع، یک فهرست شماره‌گذاری شده از منابع استفاده شده 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 به صورت اسم نویسنده(گان) و تاریخ انتشار منبع باشد. حتی‌الامکان از نام بردن 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) 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 عنوان مقاله به انگلیسی، چکیده انگلیسی و کلمات کلیدی به زبان انگلیسی است. از ذکر اسمی و آدرس نویسنده‌گان در این صفحه خودداری شود. چکیده انگلیسی تا حد امکان منطبق با چکیده فارسی تنظیم شود.

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 است. 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 نوشه 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 Jahad 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 انتهای، فایل متن مقاله را نیز در گام چهارم از فرایند ارسال مقاله، بارگذاری نمایید.

نشانی:

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

صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۶۵۳، گُدد پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴

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

پست الکترونیک: ijpr@um.ac.ir

تارنما: <http://ijpr.um.ac.ir/index.php/ijpr>

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

اثر محلول‌پاشی نانوکلات آهن و تلچیح با باکتری مزوریزوپیوم بر گره‌زایی ریشه، رشد و عملکرد نخود در شرایط دیم

جواد حمزه‌ئی^{۱*}، سعید نجاری^۲، فرشید صادقی^۲ و محسن سیدی^۲

۱- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعالی سینا همدان

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعالی سینا همدان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵

چکیده

تحقیق حاضر در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعالی سینا همدان در سال زراعی ۱۳۹۰-۹۱ اجرا شد. هدف آزمایش بررسی اثر محلول‌پاشی نانوکلات آهن و باکتری مزوریزوپیوم بر میزان گره‌زایی، رشد، عملکرد دانه و اجزای عملکرد نخود تحت شرایط دیم بود. طرح آزمایشی موردن استفاده بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و هشت تیمار (T_1 : شاهد (عدم تلچیح بذر و عدم محلول‌پاشی)، T_2 : تلچیح بذر با باکتری مزوریزوپیوم، T_3 : محلول‌پاشی نانو کود در مرحله گلدھی، T_4 : تلچیح بذر+محلول‌پاشی در مرحله غلاف‌دهی، T_5 : محلول‌پاشی در مرحله گلدھی، T_6 : تلچیح بذر+محلول‌پاشی در مرحله غلاف‌دهی، T_7 : محلول‌پاشی در مرحله غلاف‌دهی و T_8 : تلچیح بذر گلدھی و غلاف‌دهی) بود. اثر تیمارهای آزمایشی بر همه صفات (به استثنای شاخه فرعی در بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن هزار دانه، عملکردهای دانه و بیولوژیک و تعداد و وزن خشک گره در ریشه در تیمار T_8 به دست آمد. با این وجود، بین تیمارهای T_4 و T_8 از نظر عملکردهای دانه و بیولوژیک تقاضه معنی‌داری وجود نداشت. بنابراین، تلچیح بذر نخود با باکتری مزوریزوپیوم و محلول‌پاشی نانوکلات آهن در مرحله گلدھی و یا گلدھی+غلاف‌دهی، توانست بیشترین میزان گره‌زایی ریشه، شاخص‌های زراعی و عملکرد دانه را تولید کند.

واژه‌های کلیدی: تعداد غلاف در بوته، جبوهات، کود زیستی، محلول‌پاشی، وزن هزار دانه

یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در زمینه‌های مختلف کشاورزی در بخش آب و خاک، استفاده از نانوکودها برای تغذیه گیاهان می‌باشد (Mohammadzadeh *et al.*, 2011). این ترکیبات نانویی به سرعت و به صورت کامل جذب گیاه شده و به خوبی نیازها و کمبودهای غذایی آن را مرفوع می‌سازد. نانو کود آلی کلاته آهن خضراء امکان مصرف خاکی و برگی را برای عنصر آهن فراهم کرده است (Khalaj *et al.*, 2009). این نانو کود کلاته آهن به علت پایداری مناسب و توان آزادسازی کنترلی، پایه کودی مطمئن برای رهایش آهن می‌باشد. همچنین، نانو کود کلات آهن دارای کمپلکس منحصر به فرد و دارای نه درصد آهن محلول در آب در بازه پی اچ ۳ تا ۱۱ می‌باشد (Baghaei *et al.*, 2012). آهن یکی از عناصر ضروری اما کم مصرف و کم تحرک است. گیاهان در بین عناصر کم مصرف، بیشترین نیاز را به آهن دارند. آهن در ساختار هموپروتئین‌ها مانند سیتوکروم‌ها، سیتوکروم اکسیداز و لگ‌هموگلوبین شرکت می‌کند و در سنتز کلروفیل نقش مهمی

مقدمه

نخود معمولی یا زراعی یکی از سه لگوم مهم در آسیای غربی و آفریقای شمالی است. این گیاه در بیشتر از ۶۰ کشور و در تمام قاره‌های جهان به جز مناطق قطبی کشت و کار می‌شود. بر اساس اطلاعات آمارنامه‌های وزارت جهاد کشاورزی کشور، محصول نخود در سال ۱۳۸۹ با سهم ۴۳/۲۵ درصدی در بین جبوهات رتبه اول را دارد. کشت نخود در اکثر نقاط ایران به استثنای سواحل دریای خزر رواج دارد. این گیاه جهت رشد مطلوب خود نیاز به مواد غذایی ضروری و نیز ریز عناصر کم مصرف به خصوص آهن، روی و منگنز دارد. کمبود این عناصر در خاک عملکردهای کمی و کیفی دانه نخود را کاهش می‌دهد (Majnoon Hosseini, 2008).

* نویسنده مسئول: همدان، دانشگاه بوعالی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات. j.hamzei@basu.ac.ir

شرایط دیم اجرا گردید. تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق شامل T_1 : شاهد (عدم تلقیح بذر و عدم محلول پاشی)، T_2 : تلقیح بذر با باکتری مзорیزوبیوم، T_3 : محلول پاشی نانو کود در مرحله گلدهی، T_4 : تلقیح بذر + محلول پاشی در مرحله گلدهی، T_5 : محلول پاشی در مرحله غلافدهی، T_6 : تلقیح بذر + محلول پاشی در مرحله غلافدهی، T_7 : محلول پاشی در مرحله گلدهی و غلافدهی و T_8 : تلقیح بذر + محلول پاشی در مرحله گلدهی و غلافدهی بودند. خلاصه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. در این آزمایش از رقم هاشم نخود استفاده شد. این رقم پابلند بوده و مقاوم به برقدگی می‌باشد. همچنین، رنگ بذر آن روشن، اندازه دانه متوسط وزن ۱۰۰ دانه آن ۲۳-۲۵ گرم است. در هر کرت ۵ خط کاشت به فاصله ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته در هر ردیف ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای اعمال تیمارهای آزمایشی، در زمان کاشت ابتدا بذرها را با محلول قند و سپس با کود بیولوژیک رایزوچیکپی سوبر پلاس با جمعیت تقریبی 10 باکتری مзорیزوبیوم در هر میلی لیتر (تهیه شده از شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا، تهران) آغشته شدند. طبق توصیه شرکت سازنده، میزان مصرف کود بیولوژیک رایزوچیکپی، یک کیلوگرم در هکتار به ازای ۷۰-۸۰ کیلوگرم بذر نخود بود. قابل ذکر است که در تیمار شاهد، علاوه بر اینکه بذور نخود به محلول قند آغشته شدند، توسط آب معمولی (آب فاقد آهن) نیز بوته‌های نخود محلول پاشی شدند. همچنین، نانو کود کلاته آهن از شرکت صدور احرار شرق تهیه شد و به میزان دو در هزار در مراحل مختلف رشد و بر اساس تیمارهای آزمایشی محلول پاشی شد. میزان محلول پاشی به نحوی بود که بوته‌های نخود بهطور کامل آغشته به محلول شدند. در طول فصل رشد مراقبت‌های لازم برای گیاه مانند وجود علفهای هرز به صورت دستی انجام شد. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک ریشه‌های پنج بوته نخود از هر کرت بهطور تصادفی انتخاب و با دقت کافی از خاک خارج شدند و بعد از انتقال به آزمایشگاه تعداد گرههای ریشه در پنج بوته شمارش و میانگین آن‌ها به عنوان تعداد گره در ریشه ثبت گردید. سپس گرههای مدت ۴۸ ساعت در داخل آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از خشک شدن توزین شدند و میانگین وزن به دست آمده در پنج بوته، به عنوان وزن خشک گره در ریشه در نظر گرفته شد (Serraj & Sinclair, 1998). همچنین، در این مرحله از رشد، صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه اندازه‌گیری و ثبت گردید. عملکردهای بیولوژیک و دانه نیز پس از حذف اثر حاشیه با نمونه‌برداری از مساحت سه متر مربعی در

دارد. عدم دسترسی گیاه به آهن منجر به زرد شدن برگ‌های جوان و کاهش چشمگیر فعالیت فتوسنتز و در نتیجه کاهش تولید بیوماس می‌گردد (Briat et al., 2007). بنابراین، نانو کود کلاته آهن علاوه بر رفع نیاز گیاهان به این عناصر، سبب افزایش عملکرد گیاه می‌گردد. تأثیر مثبت نانو کود کلات آهن بر افزایش عملکرد و اجزای عملکرد گیاه زراعی برج گزارش شده است (Baghaei et al., 2012). گزارش شده است که محلول پاشی با نانو کود کلات آلی آهن موجب افزایش عملکرد و میزان آهن دانه گیاهان زراعی می‌شود (Khalaj et al., 2009).

از طرف دیگر استفاده از کودهای بیولوژیک از جمله راهکارهای بهبود تأمین عناصر غذایی در کشاورزی پایدار می‌باشد. باکتری ریزوپیوم، که بر روی ریشه بقولات به صورت همزیست زندگی می‌کند، نیتروژن هوا را تثبیت نموده و در اختیار گیاه قرار می‌دهد. بهبود مقدار تثبیت نیتروژن توسط ریزوپیوم‌ها، می‌تواند با روش‌های مختلفی از جمله انتخاب سویه‌های مناسب هر رقم و توجه به اثرات متقابل ریزوپیوم با Toro Beck et al., 1993 (et al., 1998). کود بیولوژیک تقویت شده رایزو چیکپی سوبر پلاس^۱ ویژه گیاه نخود بوده که دارای باکتری مзорیزوبیوم^۲ همزیست با ریشه نخود می‌باشد. کود بیولوژیک مورد نظر، افزایش رشد گیاه، مقاومت گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی و بعضی از بیماری‌های خاکزی، تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاه به‌ویژه در شرایط دیم و در نهایت محصول بیشتر و با کیفیت بالاتر را تضمین خواهد کرد Jose-Miguel et al., Bashan & Levanony, 1990 (2005). با عنایت به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص اثرات کاربرد تؤام نانو کلات آهن و باکتری مзорیزوبیوم بر روی گیاه زراعی نخود انجام نگرفته است، از این رو آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر محلول پاشی نانو کلات آهن در مراحل مختلف رشد در حضور باکتری مзорیزوبیوم بر میزان گره‌زایی، رشد، عملکرد دانه و اجزای عملکرد نخود تحت شرایط دیم به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار تحت

1- Rhizo chickpea super plus

2- *Mesorhizobium ciceri*

آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

واحد سطح و نیز شاخص برداشت اندازه‌گیری شدند. کلیه محاسبات آماری، تجزیه واریانس و مقایسات میانگین با استفاده از نرم افزار آماری SAS ver. 6.12 انجام شد و میانگین‌ها با

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش
Table 1. Soil physical and chemical properties of experimental location

بافت خاک Soil texture	پتاسیم قابل جذب Available potassium (mg.kg ⁻¹)	فسفر قابل جذب Available phosphor (mg.kg ⁻¹)	نیتروژن کل Total nitrogen (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	هدایت الکتریکی Ec (dS.m ⁻¹)	اسیدینه گل ashbaw pH	عمق Depth (cm)
Sand clay	313	32.2	0.08	1.03	0.291	7.21	0-30

Ansari *et al.*, (2005). تیمار T₈ با تیمارهای T₂, T₄ و T₆ تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). این امر در حقیقت اثر تلقیح بذر با باکتری مزوریزوبیوم را بر ارتفاع بوته نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، از آنجایی که ارتفاع بوته در مرحله گلدهی تقریباً ثابت می‌شود، بنابراین محلول پاشی نانو کود در مراحل گلدهی (تیمار T₄) و غلافدهی (تیمار T₆) اثر معنی‌داری بر ارتفاع بوته نخود نداشته است. نتایج این تحقیق با یافته‌های Bodaghi (2008) هماهنگ است. نامبرده اظهار داشت که محلول پاشی عناصر کم مصرف آهن و روی در مرحله‌ای که گیاه حداکثر رشد خود را داشته و ارتفاع بوته آن تقریباً ثابت شده است، تأثیری بر ارتفاع بوته ذرت ندارد.

نتایج و بحث ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که اثر تیمارهای مورد بررسی بر ارتفاع بوته در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در این بررسی تیمار T₈ (تلقیح بذر با باکتری + محلول پاشی نانو کود در مراحل گلدهی و غلافدهی) با میانگین ۴۶/۶۶ سانتی‌متر بیشترین و تیمار T₁ (شاهد) با میانگین ۳۵ سانتی‌متر کمترین میزان ارتفاع بوته را به خود اختصاص دادند و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده شد (جدول ۳). در مقایسه تیمارهای T₇ و T₈, مشخص گردید که تلقیح با باکتری در تیمار T₈ توانسته است ارتفاع بوته را به طور معنی‌داری افزایش دهد. برخی محققین دیگر نیز اثرات مثبت تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری‌های همزیست

جدول ۲- میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر برخی صفات نخود دیم

Table 2. Mean of squares for the effect of experimental treatments on some traits of rainfed chickpea

وزن هزار دانه 1000-Seeds weight	تعداد دانه در بوته N. of grain plant ⁻¹	تعداد غلاف در بوته N. of pod plant ⁻¹	تعداد شاخه در بوته N. of branch plant ⁻¹	ارتفاع بوته Plant height	درجه آزادی Df	منابع تغییرات Source of variance	میانگین مربعات
							تکرار Replication
32.00 ^{ns}	4.50 ^{ns}	6.12 ^{ns}	2.00 ^{ns}	1.54 ^{ns}	2	تیمار Treatment	تکرار Replication
5859.37 ^{**}	214.92 ^{**}	164.35 ^{**}	95.42 ^{**}	39.18 [*]	7	خطای آزمایشی Experimental error	تیمار Treatment
199.42	5.92	13.83	0.85	1297	14		خطای آزمایشی Experimental error
5.01	10.70	18.37	15.47	8.84		ضریب تغییرات (/) CV (%)	

ns, ** و *: غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, ** and *: no significant and significant at probability levels of 1% and 5%, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات زراعی و اجزای عملکرد نخود تحت اثر تیمارهای آزمایشی

Table 3. Means comparison of agronomic traits and yield components of chickpea under experimental treatments

تیمار	ارتفاع بوته	تعداد شاخه در بوته	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در بوته	وزن هزار دانه
Treatment	Plant height (cm)	Number of branches per plant	Number of pods per plant	Number of grain per plant	1000-seed weight (g)
T ₁	35 c	5 c	12 e	12 e	230 e
T ₂	42 ab	7 b	13 c	16 ef	245 de
T ₃	40 bc	4 c	18 cde	20 de	250 de
T ₄	43 ab	7 b	28 ab	32 b	301 b
T ₅	37 bc	4 c	15 ed	17 e	263 cd
T ₆	42 ab	7 b	23 bc	26 c	332 a
T ₇	40 bc	5 c	20 cd	22 cd	277 bc
T ₈	47 a	9 a	33 a	37 a	355 a

T₁–T₈: بهترین شاهد (عدم تلقيح بذر و عدم محلول‌پاشی)، تلقيح بذر با مزوريزوبيوم، محلول‌پاشی نانو کود در مرحله گلدهی، محلول‌پاشی در مرحله غلافدهی و غلاف‌پاشی در مرحله غلافدهی و غلاف‌پاشی در مرحله گلدهی و غلافدهی T₁–T₈: Control (non-inoculated and non-foliar application), seed inoculation with mesorhizobium, foliar application of nano fertilizer at flowering stage, seed inoculation+ foliar application at flowering stage, foliar application at podding stage, seed inoculation + foliar application at podding stage, foliar application at flowering and podding stages and seed inoculation + foliar application at flowering and podding stages, respectively

در این بررسی اختلاف بین تیمار تلقيح با باکتری مزوريزوبيوم (T₂) و تیمارهای T₃ و T₅ بهترین تلقيح با باکتری در مرحله گلدهی و غلاف‌پاشی از نظر تعداد شاخه در بوته معنی‌دار بود (جدول ۳). در این تیمار (T₂) نیز تعداد و وزن خشک گره در ریشه به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای T₃ و T₅ بود. بنابراین، احتمال می‌رود که همزیستی باکتری‌های مزوريزوبيوم با ریشه نخود سبب تثبیت بیشتر نیتروژن شده و به سبب افزایش جذب عناصر غذایی و آب در گیاه میزان، رشد و تغذیه گیاه بهبود یافته است. فعالیت‌های حاصل از تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌های همزیست در لگوم‌ها، سبب همبستگی زیاد جذب کل نیتروژن با وضعیت تولید ماده خشک گیاهی می‌شود (Giller, 2001). به عبارت دیگر، وضعیت مناسب رشد و انشعابات جانبی گیاه با توانایی فعالیت مناسب گره‌ها در جهت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن مرتبط است (Giller, 1990).

تعداد غلاف در بوته

در مورد صفت تعداد غلاف در بوته نیز مشخص گردید که اثر تیمارهای آزمایشی بر این ویژگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نیز حاکی از این بود که تعداد غلاف در بوته در تیمار T₈ نسبت به سایر تیمارها به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت (جدول ۳). در این تیمار محلول‌پاشی نانو کود کلاته آهن در دو مرحله گلدهی و غلاف‌دهی به همراه تلقيح با باکتری مزوريزوبيوم موجب دسترسی بهتر به مواد غذایی شده و به‌طور معنی‌داری افزایش تعداد غلاف در بوته را در پی داشته است. با این وجود،

تعداد شاخه در بوته نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از این است که اثر تیمارهای آزمایشی، تعداد شاخه در بوته را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر قرار داد (جدول ۲). در مقایسه میانگین تیمارهای مورد بررسی، مشخص گردید که تیمار تلقيح بذر با باکتری + محلول‌پاشی نانو کود در مرحله گلدهی و غلاف‌پاشی تعداد شاخه بیشتری را سبب شد (جدول ۳). به‌نظر می‌رسد که عناصر غذایی نظیر نیتروژن نقش عمده‌ای در فعالیت‌های بیوشیمیایی و بهبود فرآیندهای فتوسنتزی برگ‌ها داشته و در نتیجه ظرفیت تولید فتواسیلات‌ها و انتقال آن را به حداکثر رسانده است که این امر نیز به افزایش رشد و تولید بیشتر شاخه‌های فرعی منجر شد. نتایج این تحقیق با یافته‌های سایر Hall & Williams, 2003) (Kassab et al., 2004؛ پژوهشگران مطابقت دارد (Mahmoudi et al., 2005). در بررسی اثر محلول‌پاشی آهن بر روی عدس و نخود نیز، چنین نتایجی گزارش شد، افزون بر محلول‌پاشی نانو کود، با برقراری همزیستی باکتری مزوريزوبيوم با ریشه نخود در تیمار T₈ (تلقيح بذر با باکتری + محلول‌پاشی نانو کود در مرحله گلدهی و غلاف‌پاشی)، شرایط برای بهبود رشد گیاه نخود فراهم شده و در نتیجه تعداد شاخه در بوته افزایش یافته است. به عبارت دیگر، همانطوری که نتایج نشان می‌دهد (جدول ۵)، در تیمار T₈ به‌طور معنی‌داری تعداد و وزن خشک گره در ریشه بیشتر از سایر تیمارها است و این امر بیانگر این است که احتمالاً به‌دلیل افزایش تثبیت نیتروژن در تیمار مذکور، رشد گیاه و در نتیجه تعداد شاخه در بوته افزایش یافته است.

معنی دار بود. با توجه به مقایسه میانگین تیمارها مشخص گردید که وزن هزار دانه در تیمار T₈ (تلقیح بذر با باکتری مزوریزوپیوم + محلول‌پاشی نانو کود در مرحله گلدهی و غلافدهی) بیشتر از سایر تیمارهاست و در مقایسه با تیمار شاهد (T₁)، ۳۵ درصد وزن هزار دانه را افزایش داد (جدول ۳). یافته‌هایی مبنی بر افزایش وزن هزار دانه گندم در اثر محلول‌پاشی آهن، روی و منگنز، نتایج این پژوهش را تأیید می‌کند (Timmer et al., 2008). تیمار T₆ (Marschner et al., 1995) به طور معنی‌داری نسبت به تیمار T₄ (محلول‌پاشی در مرحله گلدهی و تلقیح با باکتری) وزن هزار دانه بیشتری را به خود اختصاص داد. به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی در مرحله غلافدهی از طریق افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی نانو کلاته آهن و احتمالاً افزایش طول دوره پر شدن دانه‌ها، وزن دانه را افزایش داده است. در حالی که، که این امر در مورد ویژگی تعداد دانه بالعکس بود.

عملکرد بیولوژیک

عملکرد بیولوژیک نخود در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت (جدول ۴)، به طوری که با مصرف نانو کود کلات آهن و نیز کود بیولوژیک ریزوچکپی سوپر پلاس، عملکرد بیولوژیک افزایش یافت (جدول ۵). بیشترین عملکرد بیولوژیک (۴۳۰ گرم بر متر مربع) در تیمار T₈ (تلقیح بذر با باکتری + محلول‌پاشی نانو کود در مرحله گلدهی و غلافدهی) به دست آمد که با سایر تیمارها (به استثنای تیمار T₄) نیز اختلاف معنی‌دار داشت. همانطوری که، قبل از نیز ذکر شد، تعداد شاخه در بوته و همچنین تعداد دانه طریق افزایش رشد، تعداد شاخه در بوته و همچنین تعداد دانه در بوته، موجبات تشکیل ماده خشک بیشتری را فراهم کرد. همچنین، تیمارهای تلقیح با باکتری (T₂, T₄, T₆ و T₈) عملکرد بهتری در مقایسه با گیاهان غیر باکتریایی (T₁, T₃, T₅ و T₇) داشتند (جدول ۵) که این امر نقش نیتروژن حاصل از تثبیت بیولوژیک را در افزایش رشد و در نتیجه افزایش عملکرد بیولوژیک نشان می‌دهد. گزارش شده که تلقیح بذر نخود با باکتری مزوریزوپیوم، عملکرد بیولوژیک را افزایش داد (Soleymani & Asgharzadeh, 2010). در پژوهشی روی ذرت علوفه‌ای اعلام گردید که کودهای حاوی عنصر کم مصرف از طریق افزایش سرعت رشد محصول، سطح جذب، دوام برگ و فتوسنتر، وزن خشک گیاه را افزایش دادند (Ardakani, 2008).

تیمارهای T₄ و T₈ در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳). به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی در مرحله گلدهی اثر بیشتری نسبت به مصرف نانو کود در مرحله غلافدهی داشته، بنابراین محلول‌پاشی در مرحله گلدهی تفاوت معنی‌داری با مصرف در دو مرحله رشد نخود (تیمار T₈) نداشت. به عبارت دیگر، محلول‌پاشی آهن در مرحله گلدهی به دلیل افزایش ماندگاری گل و تبدیل آن به غلاف، از طریق افزایش آسمیلات‌ها، به‌واسطه نقشی که این عنصر در فتوسنتر دارد، موجب افزایش تعداد غلاف در بوته می‌گردد (Mahmoudi et al., 2005). برخی پژوهشگران نیز اظهار داشتند که مصرف نانو کود کلات آهن در مرحله گلدهی تأثیر مثبتی بر صفات کمی و کیفی لوبیا چیزی دارد (Mahmoudi et al., 2005). همچنین، این محققین کاربرد نانو کود در دو مرحله گلدهی و غلافدهی را بهترین تیمار گزارش کردند (Mahmoudi et al., 2005).

تعداد دانه در بوته

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از این است که اثر تیمارها بر تعداد دانه در بوته معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه تیمارهای مورد بررسی نشان داد که تیمار مصرف توازن نانو کود در مراحل گلدهی و غلافدهی و تلقیح با مزوریزوپیوم (T₈) از نظر تعداد دانه در بوته در بالاترین سطح و تیمار شاهد (T₁) در پایین‌ترین سطح قرار گرفت (جدول ۳). تیمار T₄ تعداد دانه در بوته را نسبت به تیمار T₆ ۱۸/۵ درصد افزایش داد. احتمالاً محلول‌پاشی در مرحله گلدهی موجب افزایش تعداد گل و در نتیجه تعداد دانه در بوته شده و از این رو تأثیر بیشتری بر ویژگی تعداد دانه در بوته در مقایسه با محلول‌پاشی در مرحله غلافدهی داشته است. در تحقیقی اظهار شد که با مصرف نانو کود کلات در مرحله گلدهی، درصد پوکی دانه‌ها کاهش و تعداد دانه در بوته افزایش یافت (Baghaei et al., 2012). برخی محققین دیگر نیز نشان دادند که با مصرف عناصر ریز مغذی نظیر آهن، روی و منگنز اجزای عملکرد گیاهان زراعی به طور معنی‌دار افزایش می‌یابد (Chohura et al., 2007; Komosa et al., 2002; Gull et al., 2004).

وزن هزار دانه

نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۲ نشان می‌دهد که اثر تیمار در سطح احتمال یک درصد بر وزن هزار دانه

جدول ۴- میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد بیولوژیک و دانه، شاخص برداشت و تعداد و وزن خشک گره در ریشه نخود دیم

Table 4- Mean of squares for the effect of experimental treatments on biological and grain yield, harvest index and number and dry weight of root nodule in rainfed chickpea

میانگین مربعات							منابع تغییرات Source of variance
وزن خشک گره در ریشه Nodule dry weight root ⁻¹	تعداد گره در ریشه N. of root nodule	شاخص برداشت Harvest index	عملکرد دانه Grain yield (g.m ⁻²)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (g.m ⁻²)	درجه آزادی Df		
112.5 ns	18.00 ns	91.12 ns	742.2 *	2.0 ns	2	تکرار Replication	
6150.0 **	853.71 **	7.25 ns	55685.1 **	25908.6 **	7	تیمار Treatment	
112.5	68.57	35.87	194.2	542.3	14	خطای آزمایشی Experimental error	
12.9	19.71	13.40	10.7	7.9		ضریب تغییرات (%) CV (%)	

ns, ** و *: غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و پنج درصد.

ns, ** and *: no significant and significant at probability levels of 1% and 5%, respectively

می‌تواند علاوه بر افزایش رشد و نمو گیاه، عملکرد دانه را نیز افزایش دهد. به عبارت دیگر در تیمار T₈ استفاده از کود بیولوژیک ریزوچک پی سوپر پلاس در کنار محلول پاشی نانو کود در دو مرحله گلدهی و غلافدهی، موجب افزایش دسترسی به عناصر غذایی اصلی (پر مصرف) نظیر نیتروژن و عناصر ریزمغذی (کم مصرف) به خصوص آهن شده و از طریق افزایش اجزای اعمکرد (تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن دانه)، عملکرد دانه را افزایش داده است. نتایج این آزمایش با یافته‌های سایر پژوهشگران همانهنج است (Kazemi *et al.*, 2011; Lashani, 2006). (2005;

عملکرد دانه
تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۴ نشان می‌دهد که اثر تیمارهای بر عملکرد دانه نخود در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین عملکرد دانه (۱۹۴ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار تلقیح بذر با باکتری+ محلول پاشی نانو کود در مرحله گلدهی و غلافدهی (T₈) و کمترین مقدار (۷۰ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار شاهد (T₁) بود (جدول ۵). تیمار T₈ در مقایسه با تیمار T₄، عملکرد دانه را ۱۲ درصد افزایش داد، ولی بین آن‌ها از لحاظ آماری تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۵). این امر از یک طرف نشان‌دهنده اثر مثبت و معنی‌دار باکترهای همیزیست با ریشه در گیاهان باکتریایی و از طرف دیگر فراهم کردن شرایط برای جذب عناصر ریز مغذی توسط محلول پاشی نانو کود است که

جدول ۵- مقایسه میانگین عملکرد دانه و بیولوژیک و تعداد و وزن خشک گره در ریشه نخود در اثر تیمارهای آزمایشی

Table 5- Means comparison of grain and biological yield and number and root nodule dry weight of chickpea under experimental treatments

وزن خشک گره در ریشه Nodule dry weight root ⁻¹ (g)	تعداد گره در ریشه N. of nodule root ⁻¹	عملکرد دانه Grain yield (g.m ⁻²)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (g.m ⁻²)	تیمار Treatment
20 f	21 e	70 e	170 e	T ₁
100 c	50 bc	93 de	200 de	T ₂
50 e	30 de	115 d	274 c	T ₃
130 b	59 ab	171 ab	392 ab	T ₄
40 e	22 e	100 d	233 d	T ₅
100 c	52 ab	161 bc	355 b	T ₆
70 d	37 cd	141 c	312 c	T ₇
150 a	65 a	194 a	430 a	T ₈

T₁ تا T₈: توضیحات تیمارها همانند جدول ۳ است

T₁- T₈: Treatments explanation are the same with Table 3

(جدول ۴). بر اساس مقایسه میانگین تیمارها، بیشترین وزن خشک گره در ریشه مربوط به تیمار تلقیح بذر با باکتری + محلول پاشی نانو کود در دو مرحله گلدهی و غلافدهی (T_8) و کمترین مقدار نیز متعلق به تیمار شاهد (T_1) بود (جدول ۴). با توجه به بالا بودن تعداد گره در ریشه در تیمار T_8 ، برتری این تیمار از نظر وزن خشک گره در ریشه نیز دور از انتظار نیست. گزارش شده است که وزن خشک گره در ریشه و فعالیت آنزیم نیتروژناناز در گیاه نخود تحت شرایط کاربرد ریزوپویوم افزایش می‌یابد (Zaidi *et al.*, 2003; Gull *et al.*, 2004).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان می‌دهد که تیمار محلول پاشی نانو کلات آهن در مراحل گلدهی و غلافدهی به همراه تلقیح با باکتری مزوریزوپویوم موجب دسترسی بهتر به عناصر غذایی و آب در گیاه میزبان شده و بیشترین میزان صفات مورد بررسی را به خود اختصاص داده است. بطوطری که، این تیمار بیشترین میزان ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن هزار دانه و همچنین عملکرد های دانه و بیولوژیک را به خود اختصاص داد. در واقع، محلول پاشی نانو کلات آهن در مرحله گلدهی به دلیل افزایش ماندگاری گل و تبدیل آن به غلاف و نیز از طریق افزایش آسمیلات، به واسطه نقشی که این عنصر در فتوسنتز دارد، موجب افزایش تعداد غلاف در بوته می‌گردد. همچنین، محلول پاشی در مرحله غلافدهی به سبب افزایش ظرفیت فتوسنتزی برگ‌ها به افزایش وزن دانه‌ها منجر شده و در نتیجه میزان عملکرد افزایش یافته است. افزون براین، نتایج حاصل مؤید این است که کاربرد باکتری مزوریزوپویوم به همراه نانو کلات آهن میزان گره‌های تشکیل شده بر روی ریشه و رشد آن‌ها را افزایش داده که این نیز می‌تواند یکی دیگر از دلایل افزایش عملکرد در تیمار تلقیح بذر + محلول پاشی نانو کلات آهن در مرحله گلدهی و غلافدهی باشد.

تعداد و وزن خشک گره در ریشه
با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴)، اثر تیمار بر صفت تعداد گره در ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نیز مؤید این بود که بیشترین میزان این ویژگی (۶۵ گره در ریشه) در تیمار تلقیح بذر با باکتری + محلول پاشی نانو کود در مرحله گلدهی و غلافدهی (T_8) و کمترین مقدار (۲۱ گره در ریشه) در تیمار شاهد (T_1) بدست آمد و بین تیمار T_8 و T_4 به لحاظ آماری تفاوتی وجود نداشت (جدول ۵). به نظر می‌رسد وجود باکتری‌های همزیست در ریشه نخود در این تیمارها شرایط را برای افزایش تعداد گره در ریشه نخود فراهم کرده است. چنین نتایجی پیش‌تر از این توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Gull *et al.*, 2004; Zaidi *et al.*, 2003). در این بررسی تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری با تیمار محلول پاشی نانو کود در مرحله غلافدهی (T_5) نداشت. می‌توان اظهار نمود که در مرحله غلافدهی به دلیل اتمام تشکیل و ساخته شدن گره‌ها، محلول پاشی نانو کود تأثیری بر تعداد گره‌های ریشه نخود نداشت و در نتیجه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای T_5 و T_1 مشاهده نشد. در واقع، به دلیل اینکه آهن در سنتز کلروفیل و انتقال الکترون در فتوسنتز نقش حیاتی دارد، بنابراین طبیعی است که با محلول پاشی نانو کلات آهن در مرحله گلدهی به موجب افزایش میزان آهن در برگ، میزان کلروفیل برگ نیز افزایش یافته و در نتیجه آن فعالیت فتوسنتزی و سهم فتوآسمیلات اختصاص یافته به ریشه‌ها بیشتر شده و در نهایت تعداد و وزن گره در ریشه افزایش یافته است (Goos & Johnson, 2000). همچنین، گزارش شده است که عنصر آهن در ساختار آنزیمهای کلیدی مانند نیتروژناناز، نیتریت و نیترات ردوکتاز و لگ‌هموگلوبین نقش اساسی دارد. افزون بر این، نتایج مطالعات مؤید این است که در صورت کمبود آهن میزان گره‌های تشکیل شده بر روی ریشه و رشد آن‌ها بطوطر معنی‌داری کاهش می‌یابد (Slanti *et al.*, 2008).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار بر وزن خشک گره در ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است

منابع

- Ansari, M.H., Asadi Rahmani, H., Heidari Sharifabad, H., and Hosseini, A. 2005. Effect of different strains of rhizobia on the growth and yield of two cultivars of common bean. Agricultural Research 82:2-10.
- Baghaei, N., Keshavarz, N., Shukrivahed, H., and Nazaran, M.H. 2012. Effect of nano-iron chelate on yield and yield components of rice. 12th Iranian Crop Sciences Congress, September 4-6. Islamic Azad University, Karaj, Iran. Pp: 1-5. (In Persian with English Summary).

3. Bashan, U., and Levanony, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. Canadian Journal of Microbiology 36: 591-608.
4. Beck, D.P., Materon, L.A., and Afandi, F. 1993. Practical Rhizobium Legume Technology Manual. ICARDA. Technical Manual.
5. Bodaghi, S. 2008. Effect of planting pattern and foliar application iron and zinc on yield and yield components of corn. MSc. Thesis. Islamic Azad University, Khoy, Iran. (In Persian with English Summary).
6. Briat, J.F., Curie, C., and Gaymard, F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. Current Opinion in Plant Biology 10: 276-282.
7. Chohura, P., Kołota, E., and Komosa, A. 2007. The effect of different source of iron on nutritional value of greenhouse tomato fruit grown in peat substrate. Vegetable Crops Research Bulletin 67: 55-61.
8. Giller, K.E. 2001. Nitrogen Fixation in Cropping Systems. 2nd Edition. CABI, Publishing.
9. Giller, K.E. 1990. Assessment and improvement of nitrogen fixation in tropical *Phaseolus vulgaris* L. Soil Use and Management 6: 82-84.
10. Goos, R.J., and Johnson, B.E. 2000. A comparison of three methods for reducing iron-deficiency chlorosis in soybean. Agronomy journal 92: 1135-1139.
11. Gull, F.Y., Hafeez, I., Saleem, M., and Malik, K.A. 2004. Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and a mixed rhizobial culture. Australian Journal of Experimental Agriculture 44: 623-628.
12. Hall, J.L., and Williams, L.E. 2003. Transition Metal Transporters in plants. Experimental Botany 54: 2601-2613.
13. Jose-Miguel, B., Mara, J.P., Rosario, A., Concepcio, N., and Azco, N. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. Experimental Botany 417: 1761-1770.
14. Kassab, O.M., Zeing, H.A.E., and Ibrahim, M.M. 2004. Effect of water deficit and micronutrients foliar application on the productivity of wheat plants. Journal of Agricultural Research 29: 925-932.
15. Kazemi, S.H., Goloshi, S., Ghanbar, A., and Kianoush, G.A. 2005. Evaluation of planting date and seed inoculation with bacteria on yield and yield components of two soybean cultivars. Journal of Agriculture Science and Natural Resource. (In Persian with English Summary).
16. Khalaj, H., Razazi, A., Nazaran, M.H., Labbafi, M.R., and Beheshti, B. 2009. Efficiency of a nano-organic fertilizer with chelated iron in an external fertilizer on survival and quality characteristics of greenhouse cucumber. Seed and Plant improvement institute. 2th National Conference on Application of Nanotechnology in Agriculture, Karaj, Iran. pp. 2. (In Persian with English Summary).
17. Komosa, A., Kołota, E., and Chohura, P. 2002. Usefulness of iron chelates for fertilization of greenhouse tomato cultivated in Rockwool. Vegetable Crop Research Bulletin 55: 35-40.
18. Lashani, H. 2006. Effect of systems farming- nutritional on yield and yield components of (*Zea mays* L.) cultivar SC704 in Khorramabad region. M.Sc. Thesis. University of Lorestan. Lorestan, Iran.
19. Majnoon Hosseini, N. 2008. Agronomy and Pulses production. Jahad Daneshgahi publishers. pp. 284. (In Persian).
20. Mahmoudi, H., Ksouri, R., and Lachaal, M. 2005. Differences in responses to iron deficiency between two legumes lentil (*Lens culinaris*) and chickpea (*Cicer arietinum*). Journal of Plant physiology 162: 1237- 1254.
21. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second edition, Academic Press Inc London. 891 pages.
22. Mohammadzadeh, A., Majidi, H., Moghaddam, H., Majnoon Hosseini, N., and Baghaei, N. 2011. Effect of nano-iron chelate on iron content, photosynthesis pigments and leaf area index of bean. Second National Conference of Plant Physiology, Yazd University, Yazd, Iran. (In Persian with English Summary).
23. Pahlavanrad, M.R., Kykha, G., and Narouee Rad, M.R. 2008. Effect of application zinc, iron and manganese on yield, yield components and nutrient concentration of grain wheat. Journal of Research and Development 79: 1-6. (In Persian with English Summary).
24. Sajedi, N., and Ardashri, M.R. 2008. Effect of nitrogen fertilizer, zinc and iron on Physiological indices of corn. Journal of Agronomy Research 6: 99-109. (In Persian with English Summary).
25. Serraj, R., and Sinclair, T.R. 1998. Soybean cultivar variability for nodule formation and growth under drought. Plant and Soil 202: 159-166.
26. Slatni, T., Krouma, A. Samir, A., Chiffi, Ch., Gouia H., and Abdelly, C. 2008. Growth, nitrogen fixation ammonium assimilation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to iron deficiency. Journal of Plant Soil 312: 49-57.

27. Soleymani, R., and Asgharzadeh, A. 2010. Effects of Mesorhizobium inoculation and fertilizer application. Iranian journal of Pulses Research 1: 1-8. (In Persian with English Summary).
28. Toro, M., Azcon, R., and Barea, M. 1998. The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of Rhizobium genotype, mycorrhizal fungi, phosphate solubilizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa*. New Phytologist 138: 265-273.
29. 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.
30. Zayed, B.A., Salem, A.K.M., and Sharkawy, H.M. 2011. Effect of different micronutrient treatments on rice (*Oryza sativa* L.) growth and yield under saline soil conditions. World Journal of Agricultural Sciences 7:179-184.

Effect of foliar application of nano-iron chelate and inoculation with mesorhizobium bacteria on root nodulation, growth and yield of chickpea under rainfed conditions

Hamzei^{*1}, J., Najjari², S., Sadeghi², F. & Seyed², M.

1. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture,

Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. MSc. in Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture,

Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received: 12 March 2013

Accepted: 16 July 2014

Abstract

This research was carried out at the Research Farm, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University in growing season of 2011-2012. The aim of research was to evaluate the effect of foliar application of nano-iron chelate and bacterization of mesorhizobium bacteria on root nodulation, growth, grain yield and yield components of chickpea under rainfed conditions. A randomized complete block design with three replications and eight treatments (T_1 : control; non-inoculated and non-foliar application, T_2 : seed inoculation with mesorhizobium bacteria, T_3 : foliar application of nano fertilizer at flowering stage, T_4 : seed inoculation+ foliar application at flowering stage, T_5 : foliar application at podding stage, T_6 : seed inoculation + foliar application at podding stage, T_7 : foliar application at flowering and podding stages and T_8 : seed inoculation + foliar application at flowering and podding stages) were used. The effect of treatments on all traits (except harvest index) was significant. Based on mean comparisons, maximum values for traits of plant height, number of branches per plant, number of pods per plant, number of grain per plant, 1000-seeds weight, biological and grain yields, number and dry weight of root nodule were achieved at T_8 treatment. However, there is no significant difference for grain and biological yields between T_4 and T_8 treatments. Therefore, inoculation of chickpea seeds with mesorhizobium bacteria and foliar application of nano-iron chelate in either flowering stage or flowering + podding stages can produce the highest root nodulation, agronomic indices and grain yield.

Key words: Biological fertilizer, Foliar application, Pod number per plant, Pulses, Thousands seed weight

* Corresponding Author: j.hamzei@basu.ac.ir

اثر پراپلینگ بذر با سالیسیلیک اسید روی برخی صفات فتوستنتزی لوبيا چشم بلبلی تحت تنش کم‌آبی در مرحله گلدهی

آرش پاک‌مهر^۱، فرید شکاری^۲ و مهدی راستگو^۳

۱- کارشناس ارشد زراعت

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زنجان

۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۰۳

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پراپلینگ بذر با سالیسیلیک اسید و اعمال تنش خشکی در مرحله گلدهی بر برخی صفات فیزیولوژیک نظری محتوای نسبی آب، سرعت فتوستنتز، شدت تعرق، میزان CO_2 زیر اتفاق روزنها، هدایت روزنها و شاخص کلروفیل لوبيا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) رقم پرستو، آزمایشی در قالب طرح اسپلیت بلوك در شرایط مزرعه‌ای، انجام گردید. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی به عنوان عامل اصلی در دو سطح (شاهد یا آبیاری منظم و تنش در زمان شروع گلدهی تا ۵۰ درصد گلدهی) و پراپلینگ بذر با سالیسیلیک اسید به عنوان عامل فرعی در پنج سطح شامل سطوح صفر، ۹۰۰، ۲۷۰۰، ۱۸۰۰ و ۳۶۰۰ میکرومولار بودند. نتایج نشان داد اعمال تنش خشکی موجب کاهش تبادلات گازی و سرعت فتوستنتز می‌گردد. گیاهان حاصل از بذرهای پراپلینگ شده در مقایسه با گیاهانی که از بذرهای تیمار نشده به وجود آمده بودند، دارای محتوای نسبی آب، سرعت فتوستنتز، هدایت روزنها، شدت تعرق و شاخص کلروفیل بالاتری بودند. همچنین، میزان CO_2 زیر اتفاق روزنها گیاهان حاصل از بذرهای پراپلینگ شده در مقایسه با گیاهان حاصل از بذرهای تیمار نشده، پایین‌تر بود که بینگر اثر محافظتی سالیسیلیک اسید در برابر تنش خشکی می‌باشد. بیشترین افزایش در اکثر صفات در گیاهان حاصل از بذرهای پراپلینگ شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید به دست آمد؛ به طوری که منجر به افزایش سرعت فتوستنتز گیاهان حاصل از بذرهای پراپلینگ شده تحت شرایط تنش و نرمال در مقایسه با گیاهان تیمار نشده گردید. در غلظت ۳۶۰۰ میکرومولار، در اکثر صفات بررسی شده کاهشی نسبت به غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار مشاهده شد که می‌تواند نشان‌دهنده اثر ممانعی این هورمون در غلظت‌های بالاتر باشد.

واژه‌های کلیدی: لوبيا چشم بلبلی، پراپلینگ، سالیسیلیک اسید، تبادلات گازی، شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب

(García-Plazaola & Becerril, 2000). بسته شدن

روزنها از اولین واکنش‌ها به تنش کم‌آبی است و به عنوان عامل اصلی در صدمه به وجود آمده از خشکی به فرآیند فتوستنتز در نظر گرفته می‌شود. بسته شدن روزنها موجب محدود شدن دسترسی به کربن دی اکسید در مزوپیل برگ می‌گردد (Chaves, 1991). همچنین، مشاهدات نشان داده است خشکی می‌تواند متabolیسم مزوپیل را تحت تأثیر قرار داده و موجب کاهش توان فتوستنتز گردد (Tezara & lawlor, 1995).

لوبيا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) گیاهی با سازگاری بالا به دماهای بالا و خشکی در مقایسه با دیگر لگومهای دانه‌ای می‌باشد (Ehlers & Hall, 1997). گزارش شده است سازگاری به خشکی در لوبيا چشم بلبلی وابسته به حداقل رسانیدن تلفات آب به وسیله کنترل میزان گشودگی شکاف روزنها است (de Carvalho et al., 1998).

مقدمه

در بین تنش‌های محیطی، تنش خشکی دارای اثرات نامطلوب بزرگی بر تولیدات گیاهان زراعی است. گیاهان ممکن است در طی چرخه زندگی، به کرات در معرض تنش کمبود آب قرار گیرند که این شرایط می‌تواند در مناطقی غیر مناطق (Burghardt & Riedere, 2003) خشک و نیمه‌خشک نیز دیده شود. گیاهان نیز دارای مکانیسم‌های متعدد مرفولوژیک و فیزیولوژیک هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد تا نسبت به تنش آبی سازگار شوند (Karkanis et al. 2011). در بین فرآیندهای گیاهی، فتوستنتز فرآیندی مهم و کلیدی در زندگی گیاهان به شمار می‌آید و خشکی می‌تواند به عنوان یک عامل محیطی، اثر محدود کننده بزرگی بر فتوستنتز داشته باشد

* - نویسنده مسئول: دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، m.rastgoo@um.ac.ir

تحت شرایط کمبود آب نشان دادند (Singh & Usha, 2003). همچنین، سالیسیلیک اسید و استیل سالیسیلیک اسید به طور مؤثری گیاهان لوبيا و گوجه فرنگی را علیه تنفس خشکی، در غلاظت‌های ۰/۱ میلی‌مول و ۰/۵ میلی‌مول، محافظت کردند (Senaratna et al., 2000).

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر اعمال تنفس کمبود آب کنترل شده در مرحله گلدهی روی برخی صفات فیزیولوژیک و فتوسنتزی گیاه لوبيا چشم بلبلی و امکان استفاده از سالیسیلیک اسید به صورت پرایمینگ بذر جهت کاهش اثرات تنفس و بهبود کارکردهای گیاهان تحت تنفس کم آبی بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید و اعمال تنفس خشکی بر لوبيا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) رقم پرستو، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۸۷-۸۸ در ۶ مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان واقع در ۲ کیلومتری شهر زنجان، در عرض شمالی^۱ ۴۱° ۳۶'، طول شرقی ۴۸° ۲۷' و ارتفاع ۱۶۲۰ متر از سطح دریا انجام شد. بافت خاک مزرعه، لومی رسی با جرم مخصوص ظاهری ۱/۴ گرم بر سانتی متر مکعب و میانگین pH ۷/۵ بود. قبل از کاشت و در اوایل فروردین ماه، کود فسفات آمونیوم به میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار در زمین پخش و به کمک دیسک با خاک مخلوط شد. بعد از تستیح با لولر، با استفاده از دستگاه فاروئر جوی و پشتنهای ایجاد شدند.

فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از: تنفس خشکی در دو سطح (بدون تنفس یا شاهد و اعمال تنفس در زمان آغاز گلدهی تا ۵۰ درصد گلدهی کرت) و پرایمینگ به وسیله سالیسیلیک اسید در پنج سطح شامل سطوح صفر، ۹۰۰، ۱۸۰۰، ۲۷۰۰ و ۳۶۰۰ میکرومولار. جهت انجام پرایمینگ بذر پس از تهیه غلاظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، بذرهای لوبيا چشم بلبلی به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد تحت تیمارهای مختلف سالیسیلیک اسید غوطه‌ور شدند. سپس بذرها در دمای اتاق خشک شده و پس از ضدغونی با قارچ کش کاربوکسی تیرام در مزرعه به صورت آزمایش بلوک خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. هر کرت شامل پنج ردیف کاشت به طول ۴ متر و با فواصل بین ردیف ۰/۵ متر و روی ردیف‌های کاشت ۱۰ سانتی متر بود. کاشت در اوایل خرداد انجام گردید. پس از کاشت بذرها، آبیاری هر ۷ روز یکبار انجام گرفت. پس از

اظهار شده است که لوبيا چشم بلبلی قادر به نگهداری پتانسیل آب برگی بالا یا محتوا رطوبت نسبی برگی بالا، طی تنفس آبی است (Souza et al., 2004)، درنتیجه می‌تواند از پسایدگی بافت جلوگیری کند.

سالیسیلیک اسید یکی از ترکیبات فنولی است که در گیاهان تولید می‌شود. ترکیبات این گروه می‌توانند به عنوان تنظیم‌کننده رشد عمل کنند (Aberg, 1981). این ماده در گیاهان در مقادیر کم بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر یا کمتر (Raskin, 1992) به فرم آزاد و گلیکوزیل وجود دارد (Lee et al., 1995). سالیسیلیک اسید بسته به غلاظت به کار رفته، گیاه، گونه، دوره رشدی و شرایط محیطی، تأثیرات متفاوتی روی فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی نظیر شروع Iqbal et al., 2006) همچنین سالیسیلیک اسید به عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در نوسانات گیاهی در پاسخ به تشنهای محیطی شناخته شده است (Senaranta et al., 2000). گزارشاتی وجود دارد مبنی بر این که پرایم کردن بذر با سالیسیلیک اسید ممکن است در دامنه‌ای از فرآیندهای مختلف در گیاهان نظیر جوانه‌زنی بذرها (Pakmehr, El-Tayeb, 2005) (Shakirova & Sahabutdinova, 2003, 2009) تبادل و انتقال یون‌ها (Miar Sadegi et al., 2011) Khan, Harper & Balke, 1981) (Hamada & Al-hakimi et al., 2003) (گزارش نمودند خیساندن بذرها گندم در ppm (2001) ۱۰۰ استیل سالیسیلیک اسید به مدت شش ساعت، نه تنها تأثیرات ممانعت‌کننده‌گی خشکی را کاهش داد بلکه اثر تحریک‌کننده‌گی نیز بر افزایش وزن خشک قسمت‌های هوایی و ریشه‌ها داشت. Jamshidi Jam et al. (2013) میزان فتوسنتز و سرعت رشد (Jamshidi Jam et al. 2013) a و b و کل گلرنگ در خاک‌هایی با کلسیم بالا در مقایسه با گیاهانی که بذرهای آن‌ها با غلاظت‌های پایین‌تر بود. تیمار با سالیسیلیک اسید منجر به کاهش اثرات تنفس کلسیم و بهبود سرعت فتوسنتز و کارایی کاربوکسیلاسیون و کاهش کربن دی اکسید مزووفیلی در این گیاهان گردید. افزایش کلروفیل با افزایش در سرعت فتوسنتز ارتباط قوی نشان نداد؛ زیرا بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار ۲۰۰۰ میکرومولار و بیشترین سرعت فتوسنتز در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار دیده شد. گیاهان گندم تیمار شده با سالیسیلیک اسید محتوا رطوبتی، وزن خشک، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کلروفیل کل بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده

به طور تصادفی انتخاب و از قسمت وسط برگچه‌های وسطی جوانترین برگ (برگ قبل از آخر) اندازه‌گیری گردید. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده از نرم‌افزارهای آماری SPSS و MSTATC استفاده شد و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند. همچنین ضرایب همبستگی ساده بین صفات تعیین گردیدند. توزیع داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار Minitab آزمون شد و با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها تبدیلی صورت نگرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه نشان داد اثر تنش کم آبی و پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید بر تمامی صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری را نشان داد و اثر متقابل این فاکتورها تنها روی شاخص کلروفیل معنی‌دار بود (جدول ۱).

محتوای نسبی آب

مقایسه میانگین‌های تیمار تنش کم آبی نشان داد که اعمال تنش در مرحله گلدهی باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ گیاهان در مقایسه با تیمار شاهد گردید (جدول ۲). در مقابل، پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید موجب شد تا محتوای نسبی آب گیاه افزایش یابد (جدول ۳). در بین تیمارها، گیاهان حاصله از بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید بیشترین محتوای نسبی آب (۸۰/۴۸ درصد) را داشتند. همچنین بین محتوای نسبی آب گیاهان حاصله از بذرهای پرایم شده با غلظت ۹۰۰ میکرومولار و بذرهای پرایم شده با غلظت ۳۶۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و این در حالی بود که تیمار شاهد کمترین مقدار محتوای نسبی آب (۶۵/۰۴ درصد) را نشان داد (جدول ۳).

محتوای نسبی آب یکی از پارامترهای فیزیولوژیک پاسخ‌دهنده به تنش خشکی است که همبستگی خوبی با Colom & Vazzana (2003)، تحقيقيات نشان می‌دهد که تنش خشکی موجب کاهش فتوسنتر و در نهایت عملکرد می‌شود (Ma et al., 2006؛ Singh & Usha 2004؛ Anyia & Herzog 2006). (Anyia & Herzog 2004) بیان کردند گیاهان گندم تیمار شده با سالیسیلیک اسید، محتوای رطوبتی بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده در شرایط بدون تنش و تنش نشان دادند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج گزارشات ذکر شده همانگی دارد.

گذشت تقریباً ۹۰ روز از زمان کاشت، اولین جوانه‌های گل در کرت‌های آزمایشی دیده شد و تنش کم آبی با شروع گلدهی، آغاز و تا ۵۰ درصد گلدهی (۱۵ روز) ادامه یافت. پس از پایان اعمال تنش کم آبی، نمونه‌برداری و جمع‌آوری داده‌ها به صورت زیر انجام گرفت:

محتوای نسبی آب

بعد از پایان اعمال تنش کم آبی، جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC^۱) در ساعت ۱۰ صبح از برگ‌های شاخه اصلی ۴ بوته نمونه‌برداری انجام گرفت. برگ‌های جدا شده از هر بوته به طور جداگانه در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند و به سرعت به آزمایشگاه منتقل و وزن ترا آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها جهت محاسبه وزن تورمی در آب مقطور به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و بدون نور غوطه‌ور شدند و پس از آن نمونه‌ها به سرعت و با دقیق با کاغذ صافی خشک و وزن تورمی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون قرار داده و RWC بر طبق رابطه (۱) محاسبه شد.

$$\text{معادله (1)} \quad 100 \times \text{RWC} = [(\text{FW-DW}) / (\text{TW-DW})] \quad \text{در معادله (1) FW وزن تر، TW وزن تورمی و DW وزن خشک می‌باشد.}$$

فتوسنتز و پارامترهای وابسته به آن در مرحله پس از گلدهی برگچه وسطی هر برگ (برگ قبل از آخر) درون اتفاق اندازه‌گیری، طوری قرار داده شد که سطح فوقانی برگچه به طرف بالا قرار گیرد تا نور کافی دریافت کند. در نهایت داده‌های اصلی هدایت روزنایی براساس مول CO_2 بر متر مربع بر ثانیه ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)، شدت تعرق براساس میلی مول H_2O بر متر مربع بر ثانیه ($\text{mM H}_2\text{O.m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) و سرعت فتوسنترز براساس میکرومول CO_2 بر متر مربع بر ثانیه ($\mu\text{M CO}_2 \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) با استفاده از دستگاه فتوسنترز متر ایرگا (مدل LCA4) با میانگین‌گیری از سه قرائت، گزارش گردید.

شاخص محتوای کلروفیل

شاخص محتوای کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج دستی (CCM-200) استفاده گردید. برای این منظور از هر کرت فرعی در مرحله پس از گلدهی، ۱۰ بوته

۱- Relative Water Content

بنابراین، بهنظر نمی‌رسد در محدوده این آزمایش، افزایش مشاهده شده برای محتوای آب نسبی بر اثر کنترل روزنه‌ای باشد. بلکه بیشتر بهنظر می‌رسد بهدلیل افزایش مقدار آب جذب شده توسط گیاه این عمل اتفاق افتاده است. به عبارت دیگر، بهنظر می‌رسد بهبود وضعیت گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید از طریق مکانیسم اجتناب از تنفس انجام شده است.

اختلاف در میزان محتوای آب نسبی گیاه ممکن است نشان‌دهنده تأثیر متفاوت تیمارها برای جذب آب از خاک و یا توانایی کنترل هدر روی آب از طریق روزنه‌ها و یا اختلاف در توانایی گیاهان برای تجمع و تنظیم اسمزی برای حفظ تورژسانس بافت و افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیکی باشد. با توجه به داده‌های شدت تعرق (جدول ۳)، با کاربرد سالیسیلیک اسید میزان تعرق در گیاهان تیمار شده افزایش پیدا کرد.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید روی صفات اندازه‌گیری شده در لوبيا چشم‌بلبلی، رقم پرستو، تحت تنفس کم آبی در مرحله گلدهی

Table 1. Analysis variance of effects of priming by salicylic acid on evaluated traits of cowpea, cv. Parastoo, under water deficit condition in flowering stage

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f.	محتوای آب RWC	MS میانگین مربوط				میزان CO ₂ درون روزنه‌ای Leaf internal CO ₂	شاخص کلروفیل Chlorophyll index
				Photosynthesis rate	شدت تعرق Transpiration rate	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance			
Replication	تکرار (بلوک)	2	752.235	4.007*	0.548	1.425*	6036.68	129.63	
Irrigation (A)	تنش کم آبی	1	2037.24*	13.14*	8.003*	3.729*	23060.27*	288.9*	
Error (a)	اشتباه آزمایشی (a)	2	43.645	0.221	0.205	0.042	971.883	12.82	
Salicylic acid priming (B)	پرایمینگ	4	191.5**	12.9**	0.23**	1.1*	607.9**	699.8**	
Error (b)	اشتباه آزمایشی (b)	8	19.9	0.39	0.006	0.23	42.26	33.08	
A×B	تنش کم آبی × پرایمینگ	4	10.97 ^{ns}	1.28 ^{ns}	0.011	0.065 ^{ns}	22.101 ^{ns}	25.8*	
Error (c)	اشتباه آزمایشی کل ضریب تغییرات	8	4.84	0.384	0.081	0.148	22.02	6.03	
C.V (%)	(درصد)	3.04	13.48	13.49	27.41	1.26	2.92	

* و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح $\alpha=0.05$ و $\alpha=0.01$.

ns :Non-significant, *and **: Significant at $\alpha=0.05$ & $\alpha=0.01$, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر سطوح آبیاری روی محتوای نسبی آب، سرعت فتوسنتز، شدت تعرق، هدایت روزنه‌ای، CO₂ زیر اتفاق روزنه‌ای و شاخص کلروفیل در لوبيا چشم‌بلبلی، رقم پرستو، تحت تنفس کم آبی

Table2. Mean comparison effect of priming with salicylic acid on relative water content (RWC), photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, leaf internal CO₂, and chlorophyll index in cowpea (*Vigna unguiculata*), cv. Parastoo, under water deficit

شرایط	محتوای نسبی آب	سرعت فتوسنتز	شدت تعرق	هدایت روزنه‌ای	میزان CO ₂ زیر روزنه‌ای
Condition	RWC (%)	Photosynthesis rate ($\mu\text{MolCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Transpiration rate ($\text{mMolH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Stomatal conductance ($\text{MolCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Leaf internal CO ₂ ($\text{mMol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
شاهد (آبیاری)	Control	80.64 a	5.26 a	1.52 a	1.75 a
تنش کم آبی	Water Stress	64.17 b	3.93 b	0.49 b	1.05 b

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون، در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level (Duncans MRT).

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر پرایمینگ با سالیسیلیک اسید روی محتوای نسبی آب، سرعت فتوسنتز، شدت تعرق، هدایت روزنها، زیر اتفاق روزنها و شاخص کلروفیل در لوبيا چشم بلبلی، رقم پرستو، تحت تنش کم آبی CO_2

Table 3. Mean comparison effect of priming with salicylic acid on relative water content (RWC), photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, leaf internal CO_2 , and chlorophyll index in cowpea (*Vigna unguiculata*), cv. Parastoo, under water deficit

پرایمینگ با سالیسیلیک اسید	محتوای نسبی آب	سرعت فتوسنتز	شدت تعرق	هدایت روزنها	میزان CO_2 زیر روزنها
Salicylic acid priming	Relative Water	Photosynthesis rate	Transpiration rate	Stomatal conductance	Leaf internal CO_2
(μM)	Content (%)	($\mu\text{Mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	($\text{mMol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	($\text{Mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	($\text{mMol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
0	65.94 d	2.388 d	0.71 c	0.802 c	384.2 a
900	69.09 c	4.202 c	0.925 b	1.23 bc	380.2 a
1800	75.31 b	5.339 b	1.042 ab	1.57 ab	371.4 b
2700	80.48 a	6.33 a	1.217 a	2.02 a	359.4 c
3600	71.26 c	4.72 bc	1.147 a	1.406 b	366.5 b

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون، در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level (Duncans MRT)

سرعت فتوسنتز شد ولی در بالاترین غلظت (۳۶۰۰ میکرومولار) این روند معکوس گردید (جدول ۳). به نحوی که در بین تیمارها، گیاهان حاصل از بذرها پرایم شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید حداکثر سرعت فتوسنتز را دارا بودند. گیاهان حاصل از تیمار شاهد دارای کمترین مقدار از نظر سرعت فتوسنتز بودند. در بین تیمارها، سرعت فتوسنتز گیاهان حاصل از بذرها پرایم شده با غلظت ۳۶۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، اختلاف معنی‌داری با بذرها پرایم شده با غلظت ۱۸۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، نشان نداد. بهنظر می‌رسد مقادیر بالای هورمون سالیسیلیک اسید دارای اثرات بازدارنده‌ای بر کارکرد دستگاه فتوسنتز باشد. اسیمیلاسیون خالص CO_2 از طریق فتوسنتز، اولین مرحله تولید بیوماس در گیاهان است (Blanco *et al.*, 2000). گزارش شده است سرعت اسیمیلاسیون خالص حساس‌ترین جزء ظرفیت بیوشیمیایی فتوسنتز به تنش کم آبی است و می‌تواند نقطه کنترل کلیدی تحمل خشکی باشد (Zou *et al.*, 2007). Kruger *et al.*, (1995) نیز در آزمایش‌های خود مشاهده کردند که تنش کم آبی طی دوره پر شدن دانه برنج میزان فتوسنتز خالص و هدایت روزنها را کاهش داده و پیری برگ را تسریع کرد. Soza *et al.* (2004) گزارش کردند اعمال تنش خشکی بر گیاه لوبيا چشم بلبلی موجب کاهش سرعت اسیمیلاسیون کریں دی اکسید گردید که ارتباط قوی با هدایت روزنها و گشودگی روزنها داشت. آن‌ها اعلام کردند در طی مرحله اول تنش آبی فعالیت فتوشیمیایی تحت تأثیر تنش قرار نگرفت. در حالی که در مراحل پیشرفته تنش، اختلال در فعالیت‌های فتوشیمیایی با تغییر در میزان فلورسانس فتوسیستم II مشاهده شد. این مطلب بیانگر اثر

یکی از اثرات گزارش شده سالیسیلیک اسید افزایش طول ریشه و افزایش توان استخراج آب است (Gutierrez- Mohamadi *et al.*, 1998). Coronado *et al.*, (2011) گزارش نمودند گیاهان گلنگ تیمار شده با سالیسیلیک اسید دارای طول و وزن خشک ریشه بیشتری در مقایسه با گیاهان تیمار نشده بودند. علاوه بر این، گیاهان تیمار شده دارای چگالی ریشه بیشتری نیز بودند و متراکم‌ترین ریشه‌ها در تیمارهای بالاتر سالیسیلیک اسید دیده شد. آن‌ها اعلام کردند بین طول ریشه و بیوماس تولید شده در گیاه همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. از سوی دیگر، گزارش شده است پرایمینگ با سالیسیلیک اسید، از طریق افزایش سرعت، یکنواختی سبز کردن، شاخص سبز و درصد سبز کردن (Pakmehr, 2009) موجب افزایش کارایی بذرها تیمار شده گردید. این اثرات مثبت، ممکن است با بهبود و افزایش سرعت رشد ریشه‌ها در ابتدای زندگی گیاه، دلیلی برای افزایش محتوای نسبی آب گیاهان باشد. گیاهان تیمار شده با غلظت‌های بالاتر سالیسیلیک اسید با محتوای نسبی آب بالا، کمترین کاهش را در سرعت فتوسنتز در مقایسه با سایر گیاهان تیمار شده نشان دادند (جدول ۳). محتوای نسبی آب در شرایط تنش و نرمال، به ترتیب همبستگی معنی‌داری را با شدت فتوسنتز (۰/۷۸ و ۰/۸۶) و هدایت روزنها (۰/۸۶ و ۰/۷۲) نشان داد (جدول ۴). بهنظر می‌رسد با افزایش محتوای آب نسبی بهدلیل افزایش میزان گشودگی روزنها، میزان تبادلات گازی و شدت فتوسنتز افزایش یافته است.

سرعت فتوسنتز
تنش کم آبی باعث کاهش سرعت فتوسنتز گیاهان شد (جدول ۲). در مقابل، کاربرد سالیسیلیک اسید موجب افزایش

^۵ ۱۰ مولار سالیسیلیک اسید و به صورت اسپری برگی، تیمار شده بودند (Fariduddin *et al.*, 2003) یا دانه گندم که قبل از کشت با سالیسیلیک اسید (Hayat *et al.*, 2005) تیمار شده بودند، به صورت معنی‌داری افزایش یافت. همچنین فعالیت خردل که با سالیسیلیک اسید تیمار شده بودند، افزایش یافت (Fariduddin *et al.*, 2003).

شدت تعرق

تنش کم آبی، باعث کاهش شدت تعرق گیاهان شد (جدول ۲). از دیگر سوی، کاربرد سالیسیلیک اسید موجب افزایش میزان تعرق گردید (جدول ۳). در بین تیمارها، گیاهان حاصل از بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، بیشترین میزان تعرق را به خود اختصاص دادند که با بذرهای پرایم شده با غلظت‌های ۳۶۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، اختلاف معنی‌داری نداشتند. کمترین میزان تعرق نیز در گیاهان متعلق به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

سرعت تعرق نشانگر گشودگی بیشتر روزنها و به تبع آن بیانگر جذب بهتر آب از خاک است. در گیاهان زراعی تعرق بارزترین شکل تلفات آب است. در گیاهان ممکن است برای تولید هر کیلوگرم ماده خشک چند صد کیلوگرم آب مورد نیاز باشد. تعرق بیش از حد ممکن است به کاهش قابل ملاحظه تولید محصول منجر شود. در واقع افزایش تعرق سبب افزایش هدر رفت آب توسط گیاه شده و گیاه جهت جلوگیری از کاهش بیش از حد آب، روزنها خود را می‌بنند. بسته شدن روزنها مانع از ورود CO_2 به درون گیاه و در نتیجه کاهش فتوسنتر و در نهایت بیوماس و عملکرد می‌گردد. کاهش تعرق منجر به افزایش دمای برگ می‌شود که ممکن است منجر به تجزیه کلروفیل گردد. تعرق روزنها بالا احتمالاً منجر به اسیمیلاسیون بیشتر CO_2 و در نهایت بیوماس و تولید بیشتر می‌شود (Zou *et al.*, 2001; Zaharieva *et al.*, 2001). طبق آزمایش‌های Zou *et al.*, 2007) در نتیجه افزایش تبخیر و تعرق، بیوماس گیاه، عملکرد دانه، شاخص برداشت و کارایی مصرف آب، افزایش یافته‌ند. Khan *et al.*, (2003) افزایش در میزان تعرق در پاسخ به سالیسیلیک اسید، استیل سالیسیلیک اسید (ASA) و جنتسیلیک اسید (GTA) در شاخ و برگ ذرت و سویا مشاهده کردند. به علاوه، برگ‌های سویا، افزایش در راندمان مصرف آب و میزان بالای تعرق، با سالیسیلیک اسید جبرانی را نشان دادند. علاوه بر این، در برگ‌های سویا میزان بالای سرعت تعرق در

تنش آب بر سرعت فتوسنتر از طریق اثرات روزنها پیش از اثرات غیر روزنها است. همچنین، گزارشاتی وجود دارد که بیان می‌دارد کاربرد سالیسیلیک اسید بر گیاهان موجب افزایش فتوسنتر و صفات وابسته تحت شرایط نرمال و تنش گردیده است. Gemes *et al.* (2008) بیان کردند پیش تیمار کردن گیاهان گوجه‌فرنگی با سالیسیلیک اسید موجب افزایش فتوسنتر، محتوای کلروفیل، کارتونئید و گزانتوفیل در گیاهان Chandra & Bahatt (1998) تحت تنش و غیر تنش گردید. نیز گزارش کردند کاربرد سالیسیلیک اسید روی لوبيا چشم بلبلی موجب افزایش سرعت فتوسنتر و فعالیت پراکسیداز گردید.

غلظت CO_2 زیر اتاقک روزن

اعمال تنش کم آبی باعث افزایش میزان CO_2 اتاقک زیر روزنها گیاهان شد (جدول ۲). کاربرد سالیسیلیک اسید باعث شد تا مقدار CO_2 زیر اتاقک روزن به طور معنی‌داری کاهش یابد (جدول ۳). در بین تیمارهای پرایمینگ، تیمار شاهد بیشترین میزان CO_2 زیر اتاقک روزنها را دارا بود که از این لحظه اختلاف معنی‌داری با گیاهان حاصله از بذرهای پرایم شده با غلظت ۹۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، نداشت. کمترین میزان CO_2 زیر اتاقک روزن مربوط به گیاهان حاصله از بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید بود که از این لحظه اختلاف معنی‌داری با گیاهان حاصله از بذرهای پرایم شده با غلظت ۱۸۰۰ و ۳۶۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید داشتند (جدول ۳).

غلظت CO_2 زیر روزنها بالا بیانگر این مطلب است که در شرایط تنش، CO_2 وارد شده به برگ به خوبی در فرآیند فتوسنتر مورد استفاده قرار نگرفته است (Anyia & Herzog, 2004). (Koc *et al.*, 2003) گزارش کردند در تیمارهای تحت روزنها در گندم دورروم را می‌توان به کاهش شدید در هدایت مزووفیلی و در نتیجه کاهش ظرفیت فتوسنتری کلروفیل است. نسبت داد که در این صورت CO_2 وارد شده به برگ نمی‌تواند به خوبی در فتوسنتر مورد استفاده قرار گیرد. کمتر بودن میزان افزایش CO_2 زیر اتاقک روزنها در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید، شاید به دلیل عمل محافظتی سالیسیلیک اسید بر آنزیم‌های فتوسنتری باشد که موجب افزایش سرعت فتوسنتر در گیاهان تیمار شده با این هورمون گردید. گزارش شده است واکنش گیاهان سالم و یا بخش‌هایی از آن‌ها به تیمار سالیسیلیک اسید، موجب تغییر در فعالیت آنزیم‌ها یا آنزیم‌ها گردید فعالیت کربنیک انهداراز در برگ‌های خردل که با غلظت

سرعت تعرق را در گندم تحت شرایط کمبود آب افزایش داد (Waseem *et al.*, 2006). در برخی بررسی‌ها گزارش شد سالیسیلیک اسید سبب کاهش هدایت روزنهای گردید (Khodary, 2004; Larque-Saaveda, 1979) که احتمالاً این کاهش هدایت روزنهای به اثر ضد تعرقی ایجاد شده به وسیله اسپری برگی با سالیسیلیک اسید در این بررسی‌ها باشد. در آزمایش حاضر نیز در بالاترین غلظت میزان هدایت روزنهای نسبت به تیمار ۲۷۰۰ میکرومولار کاهش پیدا کرد. در مطالعه حاضر، بین هدایت روزنهای و سرعت فتوستنتز در واحد سطح برگ در شرایط نرمال ($T=20/77$) و تنفس ($T=28$)، همبستگی بالایی وجود داشت (جدول ۴). Koc *et al.* (2003) نیز بین هدایت روزنهای و سرعت فتوستنتز در واحد سطح برگ همبستگی بالایی مشاهده کردند. رابطه مثبت فتوستنتز و هدایت روزنهای می‌تواند به این دلیل باشد که با افزایش هدایت روزنهای میزان CO_2 ورودی برای استفاده در فتوستنتز، بیشتر می‌شود. هدایت روزنهای برای بخارآب به دلیل مشترک بودن مسیرهای انتشار برای کربن دی اکسید و آب، با فتوستنتز رابطه دارد (Blanco *et al.*, 2000). Rabe *et al.* (2000) نشان داد که بسته شدن روزنها اولین دلیل هدایت روزنهای با فتوستنتز، نشان از اهمیت آن در تولید دارد. Cornic (2000) نشان داد که بسته شدن روزنها اولین دلیل کم شدن سرعت فتوستنتز در شرایط خشکی متوسط است. از طرفی احتمالاً در دسترس بودن CO_2 در کلروپلاست، که عمدتاً توسط هدایت روزنهای تنظیم می‌شود، در پاسخ به کمبود آب، به عنوان سیگنالی برای تنظیم متابولیکی در برگ عمل می‌کند (Flexas & Medrano, 2002).

شاخص کلروفیل

اثر مقابله پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید و تنفس کم آبی برای صفت شاخص محتوای کلروفیل نشان داد که تنفس کم آبی باعث کاهش شاخص محتوای کلروفیل گیاهان شد. در شرایط عادی و تنفس بیشترین شاخص محتوای کلروفیل را بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، دارا بودند و کمترین شاخص محتوای کلروفیل مربوط به تیمار شاهد در شرایط تنفس بود. (شکل ۱)

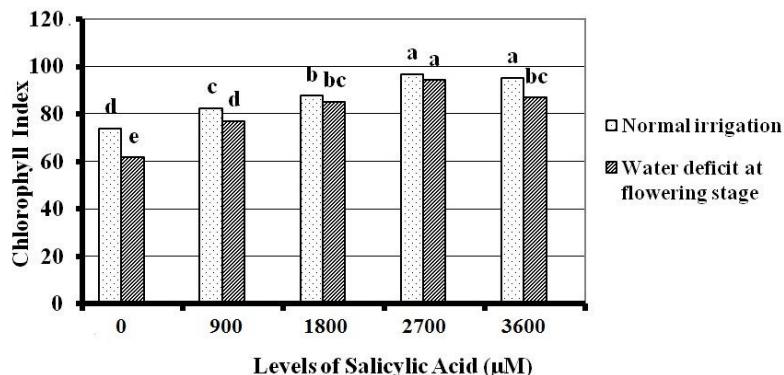
ابتدا استفاده از سالیسیلیک اسید مشاهده شد (Kumar *et al.*, 2000).

هدایت روزنهای

اعمال تنفس کم آبی باعث کاهش هدایت روزنهای گیاهان شد (جدول ۲). پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید باعث افزایش هدایت روزنهای گردید (جدول ۳). به نحوی که، در بین تیمارها، بیشترین هدایت روزنها مربوط به گیاهان حاصل از بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، بود که از این لحاظ اختلاف معنی‌داری با گیاهان حاصل از بذرهای پرایم شده با غلظت ۱۸۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید نداشت، ولی اختلاف معنی‌دار با بقیه تیمارها نشان داد. کمترین هدایت روزنها نیز مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۳).

زمانی که گیاه با کمبود آب مواجه می‌شود در نتیجه بسته شدن روزنها، سرعت تعرق و فتوستنتز به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Hirayama *et al.*, 2006). جلوگیری از رشد همراه با بسته شدن روزنها جزء اولین پاسخ‌های گیاهان به خشکی است (Klamkowski & Treder, 2006). همچنین اظهار شده است بسته شدن روزنها در پاسخ به کمبود آب رفتار مشترکی است که در میان گونه‌های گیاهی به چشم می‌خورد (Pearce *et al.*, 2006). Anyia & Herzog (2004) نیز گزارش کردند که با گذشت زمان از تنفس خشکی، در لوبيا چشم بلبلی سرعت فتوستنتز، تعرق و هدایت روزنها کاهش و در مقابل غلظت CO_2 درونی افزایش یافت. آن‌ها بیان کردند که علت این امر ممکن است به خاطر پیری برگ‌های پاسخ بسته شدن روزنها بود. با این حال بعضی محدودیت‌های خاطر بسته شدن روزنها نیز مشاهده شده است.

Khan *et al.* (2003) افزایش در میزان هدایت روزنها (ASA) در پاسخ به سالیسیلیک اسید، استیل سالیسیلیک اسید (GTA) و جنتسیلک اسید در شاخ و برگ ذرت و سویا مشاهده کردند. به علاوه، برگ‌های سویا افزایش در راندمان مصرف آب و میزان بالای تعرق با سالیسیلیک اسید تکمیلی را نشان دادند. گزارش شده است کاربرد سالیسیلیک اسید هدایت روزنها و



شکل ۱- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش کم آبی روی شاخص کلروفیل

Fig. 1. Interaction between irrigation and salicylic acid on Chlorophyll Index

الای پیری شد. بهنظر می‌رسد، که کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی بهعلت تجزیه کلروفیل باشد (Schutzz & Fangmeier, 2001). کاهش در پروتئین‌های غشایی خاص در شرایط تنش خشکی (Alber & Thorner, 1977)، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Majumdar *et al.*, 1991) و پراکسیداز (Ashraf *et al.*, 1994) از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل در شرایط تنش آبی ذکر شدند.

غلظت کلروفیل بهعنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (Herzog, 1986) و لذا کاهش در آن در شرایط تنش آبی می‌تواند بهعنوان یک عامل محدود کننده غیر روزنای بهحساب آید. گزارشاتی وجود دارد مبنی بر این که تنش آبی موجب کاهش شاخص کلروفیل برگ می‌گردد که نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Majumdar *et al.*, 1991) گزارش کردند که کاهش محتوای کلروفیل در اثر تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه موجب

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات لوبیا چشم بلبلی تحت شرایط آبیاری و تنش کم آبی

Table 4. Coefficient correlation between traits of cowpea (*Vigna unguiculata*) under normal condition

همبستگی (آبیاری)	Correlation (Irrigation)	RWC		محتوای نسبی آب		سرعت فتوسنترز		شدت تعرق		هدایت روزنه ای		میزان CO ₂ درون روزنه ای		شاخص کلروفیل Chlorophyll index	
		آبیاری Irrigation	تنش Stress	آبیاری Irrigation	تنش Stress	آبیاری Irrigation	تنش Stress								
محتوای نسبی آب	RWC	1	1												
سرعت فتوسنترز	Photosynthesis rate	0.64*	0.78**	1	1										
شدت تعرق	Transpiration rate	-0.529	0.42	0.075	0.48	1	1								
هدایت روزنه ای	Stomatal conductance	0.715**	0.86**	0.779**	0.78*	-0.068	0.32	1	1						
میزان CO ₂ درون روزنه ای	Leaf internal CO ₂	0.615*	0.07	0.078	0.233	-0.55*	-0.65**	0.106	0.06	1	1				
شاخص کلروفیل	Chlorophyll index	0.13	0.5	0.69**	0.64*	0.486	0.76**	0.45	0.44	-0.511	-0.66**	1	1		

* و **: بهترتب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: Significant at the 5 and 1% level of probability respectively

میزان کلروفیل برگ در مقایسه با تیمار ۲۷۰۰ میکرومولار کاهش پیدا کرد.

نتایج آزمایش نشان داد که گیاهان حاصل از بذرهای پرایم شده با سالیسیلیک اسید با ایجاد شرایط مناسب، برای مثال از طریق افزایش محتوای نسبی آب، شدت تعرق، هدایت روزنها و شاخص کلروفیل برای گیاه، توانستند سرعت فتوسنترز را در شرایط عادی و تنش بهبود بخشند. همچنین بهنظر می‌رسد افزایش سرعت فتوسنترز با کاربرد سالیسیلیک اسید ضمن اینکه از طریق اثرات روزنها می‌تواند انجام شود، هم در گیاهان تحت تنش و هم در گیاهان تحت شرایط غیر تنش میزان کربن دی اکسید زیر اتفاق روزنها در مقایسه با گیاهان تیمار شاهد پایین‌تر بود که بیانگر اسیلیاسیون بهتر کربن در قسمت مزوپیل برگ می‌باشد. در نهایت، به نظر می‌رسد کاربرد سالیسیلیک اسید با اثر محافظتی و بهبوددهندگی باعث کارکرد بهتر گیاهان تحت شرایط تنش و نرمال می‌گردد.

جنبهای متابولیک گیاهانی که با سالیسیلیک اسید یا مشتقان آن تیمار شده‌اند، تغییراتی را با درجات مختلف نشان می‌دهند که بستگی به نوع گیاه و روش اعمال سالیسیلیک اسید دارد. برای مثال کاربرد سالیسیلیک اسید (۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، معادل با ۱۴۵ میکرو مولار) به قسمت‌های برگی گیاه کلزا (*Brassica napus*) میزان کلروفیل را افزایش داد (Ghai et al., 2002). Singh & Usha (2003) بیان کردند که خیساندن بذرهای گندم در محلول سالیسیلیک اسید منجر به تولید گیاهچه‌هایی با کلروفیل کل بالاتری در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده در شرایط نرمال و تنش گردید. همچنین خیساندن بذرهای گندم در محلول ۱۰⁻⁵ مولار از سالیسیلیک اسید، منجر به گیاهانی شد که دارای مقدار رنگدانه‌های بیشتری بودند ولی با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید، مقدار رنگدانه‌ها کاهش یافتند (Hayat et al., 2005). در آزمایش حاضر نیز با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید به کار رفته برای عمل پرایمینگ، میزان کلروفیل افزایش یافت. ولی در آخرین سطح غلظت به کار رفته و بهخصوص در شرایط تنش

منابع

1. Aberg, B. 1981. Plant growth regulators XLI. Mono substituted benzoic acid. Swed. J. Agric. Res. 11: 93-105.
2. Albert, R.S., and Thorner, J.P. 1977. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. Plant Physiol 59: 351- 353.
3. Anyia, A.O., and Herzog, H. 2004. Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under mid-season drought. Europ. J. Agron. 20: 327-339.
4. Ashraf, M.Y., Azim, 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 Plant 16: 185- 191.
5. Blanco, I.A., Rajaram S., Kronstad,W.E., and Reynolds, M.O. 2000. Physiological performance of synthetice hexaploid wheat-derived populations. Crop Sci 40: 1257-1263.
6. Burghardt, M., and Riederer, M. 2003. Ecophysiological relevance of cuticular transpiration of deciduous and evergreen plants in relation to stomatal closure and leaf water potential. J Exp Bot. 54: 1941-1949
7. Chandra, A., and Bahatt, R.K. 1998. Biochemical and physiological response to salicylic acid in relation to the systemic acquired resistance. Photosyntheteica. 35: 255-258.
8. Chaves, M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. J. Exp. Bot. 42: 1-16.
9. Colom, M.R., and Vazzana, C. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. Environ. Exp. Bot. 49: 135-144.
10. Cornic, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreased stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. TIBS. 5: 187-188.
11. de Carvalho, M.H.C., Laffray, D., and Louguet, P. 1998. Comparison of the physiological responses of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. Environ. Exp. Bot. 40: 197-207.
12. Ehlers, J.D., and Hall, A.E. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Field Crops Res 53: 187-204.
13. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid .Plant Growth Reg 45: 215-225.

14. Fariduddin, Q., Hayat, S., and Ahmad, A. 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*. 41: 281-284.
15. Flexas, L., and Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plant: Stomatal and non-stomatal limitation revisited. *Ann. of Bot.* 89: 183-189.
16. García-Plazaola J.I., and Becerril, J.M. 2000. Effects of drought on photoprotective mechanisms in European beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings from different provenances. *Trees-Struct. Funct.* 14: 485-490.
17. Gemes, K., Poor, P., Szepesi, A., and Tari, I. 2008. Role of salicylic acid pre-treatment on the photosynthetic performance of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill. L. cvar. Rio Fuego) under salt stress. *Acta Biologica Szegediensis*. 52:161-162
18. Ghai, N., Setia, R.C., and Setia, N. 2002. Effects of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, tiller activity and yield components in *Brassica napus* L. (cv. GSL 1). *Phytomorphic* 52: 83-87.
19. Gutiérrez-Coronado, M., Trejo, C.L., and Larqué-Saavedra, A. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant. Physiol. Biochem* 36: 563-565.
20. Hamada, A.M., and Al-Hakimi, A.M.A. 2001. Salicylic acid versus salinity-droughtinduced stress on wheat seedlings. *Rostl. Vyr.* 47: 444-450.
21. Harper J.P., and Balke, N.E. 1981. Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in wheat roots by salicylic acid .*Plant Physiol* 68: 1349-1353.
22. Hayat, S., Fariduddin, Q., Ali, B., and Ahmad, A. 2005. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. *Acta Agron. Hung.* 53: 433-437.
23. Herzog, H. 1986. Source and sink during the reproductive period of wheat. Scientific publishers, Berlin and Hamburg.
24. Hirayama, M., Wada, Y., and Nemoto, H. 2006. Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. *Breed. Sci.* 56: 47-54.
25. Iqbal, M., Ashraf, M., Jamil, A., and Shafiq, U.R.M. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress. *J. integrative Plant Biol.* 48 (2): 181-189.
26. Jamshidi Jam, B., Shekari, F., and Zangani, E. 2013. Application of bio-sulfur fertilizer and seed pretreatment with salicylic acid improved photosynthetic parameters of safflower. *Intern. J. Agron. Plant Prod.* 4 (11): 3068-3075.
27. Karkanis, A., Bilalis, D., Efthimiadou, A. 2011. Architectural plasticity, photosynthesis and growth response velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medicus) plants to water stress in a semi-arid environment. *Aust. J. Crop Sci.* 5 (4): 369-374.
28. Khan, W., Prithviraj, B., and Smith, D.L. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *J. Plant Physiol* 160: 485-492.
29. Khodary, S.F.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal Agriculture Biology* 6: 5-8.
30. Klamkowski, K., and Treder, W. 2006. Morphological and physiological responses of strawberry plants to water stress. *Agricul Conspectus Sci* 71 (4): 159-165.
31. Koc, M., Barutcular, C., and Genc, I. 2003. Photosynthesis and productivity of old and modern durum wheats in Mediterranean environment. *Crop Sci.* 43: 2089-2098.
32. Kruger, G.H.J., Van Rensburg, L., and Mahtis, P. 1995. Carbon dioxide fixation: stomatal and non-stomatal limitations in drought stressed *Nicotina tobacum* L. cultivar. Xth International Photosynthesis Congress, Montpellier, France. 5: 505-510.
33. Kumar, P., Lakshmi, N.J., and Mani, V.P. 2000. Interactive effects of salicylic acid and phytohormones on photosynthesis and grain yield of soybean (*Glycine max* L. Merrill). *Physiol. Mol. Plant* 6: 179-186.
34. Larque-Saavedra, A. 1979. Stomatal closure in response to salicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol* 93: 371-375.
35. Lee, H., León, J., and Raskin, I. 1995. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*, 92: 4076-4079.
36. Ma, Q.Q., Wang, W., Li, Y. H., Li, D.Q., and Zou, Q. 2006. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar applied glycinebetaine. *J. Plant Physiol* 163: 165-175.
37. Majumdar, S., Ghosh, S., Glick, B.R., and Dumbroff, E.B. 1991. Activities of chlorophyllase, phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought. *Physiol. Plant* 81: 473-480.

38. Miar Sadegi, S., Shekari, F., Fotovat, R., and Zangani, E. 2011. The effect of priming by salicylic acid on vigor and seedling growth of canola (*Brassica napus*) under water deficit condition. Journal of Plant Biology 6: 55-70. (In Persian with English abstract).
39. Mohammadi, L., Shekari, F., Saba, J., and Zangani, E. 2011. Effects of seed priming with salicylic acid on vigor and morphological traits of safflower seedlings. Modern Science of Sustainable Agriculture Journal 7: 63- 72. (In Persian with English abstract).
40. Pakmehr, A. 2009. Effect of priming by salicylic acid on morphological and physiological traits of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) under water deficit. MSc Thesis Faculty of Agriculture, Zanjan University. (In Persian).
41. Pearce, D.W., Millard, S., Bray, D.F., and Rood, S.B. 2006. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. Tree Physiol 26: 211-218.
42. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. 43: 439-463.
43. Schutzz, M., and Fangmeier, A. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. CV. Minaret). Pollution 114: 187- 189.
44. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul 30: 157-161.
45. Shakirova, F.M., and Sahabutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci 164: 317-322.
46. Singh, B., and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regul 39: 137-141.
47. Souza, R.P., Machado, E.C., Silva, J.A.B., and Silveira, J.A.G. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. Environ. Exp. Bot. 51: 45–56.
48. Tezara, W., and Lawlor, D.W. 1995. Effects of water stress on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. In: Photosynthesis: From Light to Biosphere. Mathis, P.(Ed). VOL IV. pp: 25-628. Kluwer Acad. Publishers, Dordrecht-Berlin-london.
49. Waseem, M., Athar, H., and Ashraf, M. 2006. Effect of salicylic acid applied through rooting medium on drought tolerance of wheat. Pakistan Journal Botany 38 (4): 1127- 1136.
50. Yang, J.C., Zhang, J.H., Liu, L.J., Wang, Z.Q., and Zhu, Q.S. 2002. Carbon remobilization and grain filling in Japonica/Indica hybrid rice subjected to photosynthesis water deficits. J. Agron. 94: 102-109.
51. Zaharieva, M., Gaulin, E., Havaux, M., and Monneveux, P. 2001. Drought and heat responses in the wild wheat relative *Aegilops geninervata* roth. Crop Sci 41: 1321- 1329.
52. Zou, G.H., Liu, H.Y., Mei, H.W., Liu, G.L., Yu, X.Q., and Luo, L.J. 2007. Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field. J. Integrative Plant Biol 49: 1508-1516.

Effect of seed priming by salicylic acid on some photosynthetic traits of cowpea under water deficit in flowering stage

Pakmehr¹, A., Shekari², F. & Rastgoo^{3*}, M.

1- MSc. in Agronomy

2- Associate professor of Agronomy Department, University of Zanjan

3- Associate professor of Agronomy and Plant Breeding Department, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 11 April 2012

Accepted: 24 December 2014

Abstract

Effect of seed priming by salicylic acid and application of controlled water stress in flowering stage on some physiological characters such as relative water content, chlorophyll index, photosynthetic rates, transpiration rates, stomatal conductance, and leaf internal CO₂ concentration was investigated on cowpea (*Vigna unguiculata* L. cv. Parastoo) plants. Experiment was done as a split block design with 3 replications in 2008-2009 at Research Farm of Agriculture Faculty, University of Zanjan. Factors were including controlled water stress as main plot in 2 levels (well watering and water shortage stress from initiation of flowering until 50% flowering of plot) and priming with salicylic acid as subplot factor in 5 levels involving 0, 900, 1800, 2700, 3600 µM. Results showed that effect of water stress and salicylic acid was significant on physiological traits. Water deficit reduced gas exchange and photosynthesis rate. On the other hand, seed priming enhanced relative water content, photosynthetic rates, transpiration rates, stomatal conductance and chlorophyll index compared to untreated plants. Also, leaf internal CO₂ concentration was lower in this plants compared to untreated plants. It shows protective effects of salicylic acid against drought-stress. In general, among salicylic acid concentrations, 2700 µM treatment had the highest values in measured traits. In this treatment both in normal and stressed conditions photosynthesis rate was highest compared to untreated plants. In 3600 µM in all traits there was a decline compared to 2700 µM treatment. It shows that this hormone in higher concentrations has a preventing effect in physiological process.

Key words: Cowpea, Priming, Salicylic acid, Gas exchange, Chlorophyll index, Relative water content.

اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و کیفی نخود در شرایط دیم

علی مرتضی چراغی^۱، نور علی ساجدی^{۲*} و مسعود گماریان^۳

۱- کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

۲- استادیار 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: ۱۳۹۲/۱۰/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۳

چکیده

این آزمایش بهصورت فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۰ انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل محلول‌پاشی سلنیوم در چهار سطح صفر، ۶، ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر بودند. نتایج نشان داد با محلول‌پاشی ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم، میزان نشت یونی سلول نسبت به شاهد به ترتیب ۱۱/۶ و ۱۸/۸٪ کاهش نشان داد. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین عملکرد دانه معادل ۱۶۸۷/۶ میلی گرم در هکتار از تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توان با ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۷/۶٪ افزایش نشان داد. بیشترین غلظت سلنیوم دانه معادل ۲۱۱۹ قسمت در بیلیون از تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توان با ۱۸ گرم سلنیوم در هکتار حاصل شد که غلظت سلنیوم دانه نسبت به تیمار شاهد ۳/۹ برابر افزایش نشان داد. بیشترین مقدار پروتئین دانه معادل ۲۰/۸٪ از تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توان با ۱۲ گرم سلنیوم در هکتار حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۳/۸٪ افزایش نشان داد.

واژه‌های کلیدی: عملکرد دانه، تنش خشکی، نشت یونی، سلنیت سدیم، محلول‌پاشی

مقدمه

ایران از نظر تولید جبوهات در شرایط دیم، بعد از کشورهای هند، پاکستان و ترکیه در رتبه چهارم جهان قرار دارد، در صورتی که از نظر تولید در واحد سطح در رتبه آخر قرار گرفته است (Rezaianzadeh, 2009). نخود دارای پروتئین بالا و یک محصول زراعی کم هزینه در مناطق سرد، معتدل و نیمه گرمسیری می‌باشد و در بهبود ساختمان خاک و پایداری خاک نقش عمده‌ای دارد (Neill *et al.*, 1996).

گیاهان با تنش خشکی به مرحله رشد، شدت و مدت تنش واپسیه است (Reddy *et al.*, 2004). در سطح سلولی، غشاء‌ها و پروتئین‌ها می‌توانند از طریق کاهش در آبگیری و افزایش گونه‌های فعل اکسیژن آسیب بینند (Wisniewski, 2002a & Artlip & Artlip, 2002b). تنش خشکی از طریق کاهش رشد سلول در مرحله رشد رویشی، باعث کاهش رشد و ارتفاع گیاه می‌گردد. از عمومی ترین پاسخ‌ها به تنش در گیاهان، می‌توان به تولید انواع مختلفی از ترکیبات با نام عمومی محلول‌های سازگار از قبیل: پرولین، گلایسین بتائین، اسید سالیسیلیک و غیره اشاره نمود که از طریق تنظیم اسمزی، سمیت زدایی، حفظ انسجام غشاء و حفظ نسبت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، موجب بهبود وضعیت عمومی گیاه می‌گردد (Ashraf *et al.*, 2007). سالیسیلیک اسید به‌وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد، تکامل گیاه، جذب یون، فتوسنتر و جوانه زنی ایفا می‌کند. القای گلدهی، جلوگیری از سنتز اتیلن، تأثیر در باز و بسته شدن روزنه‌ها و تنفس از دیگر نقش‌های مهم آن بهشمار می‌رود (El-Tayeb *et al.*, 2005). اسید سالیسیلیک تنظیم‌کننده فرآیندهای فیزیولوژیکی، از جمله گرمایشی و دفاع گیاه در برابر

*- نویسنده مسئول: اراک، دانشگاه آزاد اسلامی اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات. صندوق پستی ۳۸۱۳۵/۵۶۷ n-sajedi@iau-arak.ac.ir .۰۹۱۸۸۶۲۹۰۹۲

مفید برای افزایش مصرف سلنیوم توسط حیوانات و انسان می‌باشد (Broadley *et al.*, 2010). گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی، مصرف سلنیوم به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاه‌چههای گندم را افزایش داد. با این وجود این افزایش بر پراکسیداسیون چربی‌ها بی‌تأثیر نبود (Xiaoqin *et al.*, 2009). در شرایط محدودیت رطوبتی، مصرف ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم از منبع سلنات سدیم مقدار پتانسیل آب برگ، نسبت تعرق و هدایت روزنهای را در گیاه‌چههای یونجه زرد کاهش داد و باعث محدودیت سرعت جریان محلول آب در سیستم آوندی شد. سلنیوم در شرایط کمبود آب تحمل گیاهان را از طریق کاهش تعرق، یا کاهش پتانسیل اسمزی بهبود می‌دهد (Kostopoulou *et al.*, 2010). مطالعات نشان داده که اثر حفاظتی سلنیوم در برابر تنش اکسیداتیو در گیاهان عالی، به افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون لیپید بر می‌گردد (Djanaguiraman, 2005). ترکیباتی مانند سلنیوم قادر به حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند و از پراکسیداسیون چربی‌های غشائی در گیاه‌چههای جلوگیری می‌کنند (Chu, 2010). با توجه به اهمیت محصول نخود و نقش اسید سالیسیلیک و سلنیوم در بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی، در این تحقیق، تأثیر سلنیوم و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات زراعی، فیزیولوژیکی و بهبود کیفیت نخود در شرایط دیم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف مختلط اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر برخی خصوصیات زراعی، فیزیولوژیکی و کیفی نخود دیم، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۹۰-۹۱ در منطقه زالیان شهرستان شازند، از توابع استان مرکزی با طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۵۸ دقیقه شمالی و ارتفاع ۲۲۳۰ متر از سطح دریا اجرا شد. خصوصیات اقلیمی منطقه کشت در سال زراعی ۱۳۹۱-۹۰ در جدول ۱ ارائه شده است.

میکروارگانیسم‌های بیماریزا می‌باشد (Madah, 2005). تقسیم سلولی را در مریستم گیاه‌چه گندم افزایش داده و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد. اسید سالیسیلیک سبب افزایش ارتفاع گیاه سویا در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای گردید (Mehrabian, 2011). بهنظر می‌رسد اسید سالیسیلیک از طریق توسعه واکنش‌های ضد تنش، نظری افزایش تجمع پرولین، باعث تعديل شرایط تنش‌زا می‌شود و باعث تسريع در بهبود رشد پس از رفع تنش می‌گردد (Sajedi & Golinezhad, 2012). گزارش شده است که اسید سالیسیلیک در گیاهانی که تحت تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند، نقش حفاظتی دارد و سبب افزایش تحمل به شوری و کمبود آب در گیاه‌چههای گندم می‌شود (Senaranta, *et al.*, 2002). نتایج مشابهی از ایجاد تحمل در گوجه فرنگی و لوبیا در مقابل تنش‌های گرما، سرما و خشکی توسط اسید سالیسیلیک گزارش شده است (Senaratna *et al.*, 1988).

سلنیوم عنصری است که در خاک، آب و برخی مواد غذایی یافت می‌شود. این عنصر یک ماده معدنی است و در مقادیر کم، جهت تأمین سلامت انسان ضروری است. بیشترین مقدار این عنصر در خاک یافت می‌شود (ATSDR, 2003). بافت‌هایی که مقدار سلنیوم بیشتری دارند، از فعالیت رشدی بهتری برخوردار هستند (Kahakachchi *et al.*, 2004). جذب سلنیوم در گیاه با توجه به نوع خاک و گیاه متفاوت است. مهم‌ترین عامل، شکل و غلظت سلنیوم در خاک است. فرم غالب و معدنی سلنیوم در خاک‌های هوازی، به صورت سلنات و سلنیت می‌باشد. سلنات راحت‌تر جذب گیاه می‌شود و در مقادیر بیشتری در اندام‌های هوایی نسبت به ریشه تجمع می‌یابد (Wu *et al.*, 2004). سلنیوم نقش مهمی در فرآیندهای متابولیکی بعضی گیاهان دارد و باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر اشعه مادره بنفش خورشید و جلوگیری از پیری زودرس می‌شود. اخیراً مشخص شده که سلنیوم این توانایی را دارد که وضعیت آب در گیاهان را در شرایط خشک تنظیم کند (Kuznetsov *et al.*, 2003). مطالعات متعددی اثرات مفید سلنیوم را در گیاهان به اثبات رسانیده است، زیرا باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان و در نتیجه عملکرد بهتر می‌شود. همچنین غنی‌سازی زیستی محصولات زراعی با سلنیوم، با کاربرد سلنیوم همراه کودها، یک تکنیک

جدول ۱- آمار هواشناسی منطقه آزمایش در فصل زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱

Table 1. Meteorological data of experiment location in cropping season 2011-2012

ماه	Months	میانگین حداکثر دما Mean max. temp. (°C)	میانگین دما حداقل Mean min. temp. (°C)	بارندگی Precipitation (mm)	رطوبت نسبی Relative humidity (%)
December	آذر	8.9	-5.9	6.2	51
January	دی	8.4	-3.6	6.7	47
February	بهمن	5.9	-4.7	49.7	53
March	اسفند	7.6	3.7	14.6	43
April	فروردین	15.4	2.7	44.4	50
May	اردیبهشت	22.7	6.7	9.6	53
June	خرداد	28.9	11.7	.	29
July	تیر	32.8	12.8	.	29
August	مرداد	33.8	13.7	0.4	27

دیسک از برگچه‌ها شد. سپس دیسک‌ها به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ سی میلی‌لتر مانیتورول با پتانسیل اسمزی ۲-۲ بار منتقل شدند و بعد از ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی محلول در هر لوله در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به وسیله دستگاه هدایت‌سنجه الکتریکی قرائت شد (Aman *et al.*, 2003).

برداشت نهایی در تاریخ ۱۳۹۱/۵/۱ انجام شد. در مرحله برداشت برای محاسبه عملکرد دانه، از هر کرت آزمایشی ۲ متر مربع برداشت شد. اجزای عملکرد از میانگین ۱۵ بوته محاسبه شد. همچنین جهت اندازه‌گیری درصد پروتئین و مقدار سلنیوم دانه، نمونه‌های حاصل از دو تکرار به آزمایشگاه ارسال شد. درصد پروتئین با روش (1996) Emami و غلطنت سلنیوم دانه به روش (2001) Hu *et al.* اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از این آزمایش به کمک نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث تعداد غلاف در بوته

با توجه به جدول تجزیه واریانس صفات، اثر اسید سالیسیلیک بر تعداد غلاف در بوته در سطح ۵٪ معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین تیماره‌ها نشان داد با محلول پاشی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، تعداد غلاف در بوته به ترتیب نسبت به شاهد ۱۱/۵۳ و ۱۰/۹۴٪ افزایش یافت. با محلول پاشی ۶، ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم افزایش یافت. تعداد غلاف در بوته نسبت به شاهد به ترتیب ۹/۳۶، ۳/۶ و ۴/۵۷٪ افزایش نشان داد (جدول ۳). به طور کلی تنش کم آبی در مرحله گلدهی، موجب ریزش گل‌ها، سقط دانه‌های تازه تشکیل شده، کاهش طول دوره و تشکیل اندامهای زایشی و در نتیجه کاهش تعداد غلاف‌ها می‌شود (Shekari, 1991). به نظر

عوامل مورد آزمایش شامل سلنیوم خالص در چهار سطح صفر، ۶، ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار (معادل صفر، ۱۹/۹۸، ۳۹/۹۶ و ۵۹/۹۴ گرم در هکتار سلنیت سدیم) و اسید سالیسیلیک در سه سطح صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر (معادل ۰/۳۸ و ۰/۷۶ میلی مولار) بود. سلنیوم از منبع سلنیت سدیم $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ استفاده شد. محلول پاشی ترکیبات فوق دو هفته قبل از گلدهی صورت گرفت. برای محلول پاشی با اسید سالیسیلیک، ابتدا این ترکیب در ۱۰ سی میلی‌لتر (الکل حل شد و سپس به صورت محلول با آب مورد استفاده قرار گرفت. کشت در تاریخ ۱۳۹۱/۱/۲۰ با استفاده از رقم‌هایش شد. در پاییز ۸۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفر از منبع سوبر فسفات تریپل و در بهار ۲۵ کیلوگرم در هکتار نیتروزن خالص از منبع اوره قبل از کشت به زمین اضافه شد. مساحت هر کرت ۱۲ متر مربع بود. فاصله بین ردیف‌های کشت ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها روی ردیف ۱۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

صفات محتوی نسبی آب برگ و میزان نشت یونی سلول در مرحله گلدهی اندازه‌گیری شد. در مرحله گلدهی، از هر کرت ۱۰ برگ جوان کاملاً توسعه یافته از ۵ بوته برداشت و در داخل نایلون قرار داده شد و بلا فاصله به آزمایشگاه منتقل و توزیز گردید (وزن تر)، سپس سطح برگ‌ها کاملاً شسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار داده شدند. نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری وزن اشباع مجدد توزیز گردیدند. در نهایت برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون ۷۵ درجه قرار داده شد تا خشک شوند و با استفاده از روش ترنر (Turner, 1981)، محتوی نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{محتوی نسبی آب برگ} = \frac{\text{وزن خشک - وزن اشباع}}{\text{وزن خشک}} \times 100$$

برای اندازه‌گیری میزان نشت یونی، در مرحله گلدهی از ۱۰ برگ جوان توسعه یافته مربوط به ۵ بوته اقدام به تهیه

افزایش می‌یابد (Rezaianzade, 2011). اسید سالیسیلیک در گیاهانی که تحت تنشی‌های محیطی قرار دارند نقش حفاظتی دارد و سبب افزایش تحمل به شوری و کمبود آب در گیاهچه‌های گندم می‌شود. نتایج مشابهی از ایجاد تحمل در گوجه فرنگی و لوبیا در مقابل تنش‌های گرمایی، سرما و خشکی توسط اسید سالیسیلیک گزارش شده است (2002 Senaranta *et al.*,).

وزن صد دانه

اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک، سلنیوم و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر وزن صد دانه معنی‌دار نشد (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل، بیشترین وزن صد دانه معادل ۲۵/۲۵ گرم از تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توانم با ۶ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (بدون محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم) به میزان ۶/۱۸٪ افزایش نشان داده است (جدول ۴). به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک از طریق توسعه واکنش‌های ضد تنش، نظیر افزایش تجمع پرولین، باعث تعدیل شرایط تنش‌زا می‌شود.

محققان معتقدند که گیاه نخود در مرحله گلدهی و اوایل تشکیل غلاف

می‌رسد که با محلول پاشی سلنیوم و اسید سالیسیلیک در شرایط دیم و محدودیت رطوبتی، تا حدودی حفظ تعادل آب در گیاه برقرار می‌شود و شرایط برای تلقیح گل‌های بیشتر فراهم می‌گردد و در نتیجه تعداد واحدهای زایشی در گیاه افزایش می‌یابد. پرایمینگ بذور لوبیا چشم بلبلی رقم پرستو با اسید سالیسیلیک، باعث افزایش طول غلاف، تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه در غلاف‌های شاخه اصلی و فرعی، زیست توده، عملکرد دانه و شاخص برداشت در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس شد (Pakmehr *et al.*, 1999).

تعداد دانه در غلاف

اثر اسید سالیسیلیک، سلنیوم و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار نشد (جدول ۲). وقتی محدودیت مواد فتوسنتزی وجود داشته باشد، دانه‌هایی که در شروع تشکیل هستند، سقط می‌شوند و در نتیجه تعداد دانه در غلاف کاهش می‌یابد، بهطوری که ممکن است غلاف کاملاً پوک شود. بنابراین، وجود تنفس خشکی به ویژه در مرحله رشد زایشی می‌تواند از این طریق باعث کاهش میانگین تعداد دانه در غلاف شود. نتایج آزمایش‌های متعدد حاکی از آن است که با افزایش رطوبتی مراحل رشد زایشی به خصوص در مراحل گلدهی و غلافدهی تعداد دانه در غلاف

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده نخود در سطوح مختلف محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم
Table 2. Analysis of variance (Mean square) of measured traits of chickpea at different levels of foliar application of salicylic acid and selenium

منابع تغییر	منابع تغییر SOV	درجه آزادی d.f	تعداد دانه در غلاف Number of Grain per pod	وزن صد دانه ۱۰۰ grain weight	تعداد غلاف در بوته Number of Grain per pod	محتوی نسبی Relatively water content	آب برگ آب برگ	میزان نشت بونی Ion leakage	وزن هکتولیتر Hectoliter weight	عملکرد دانه Grain yield
تکرار	Replication	3	0.0005 ^{ns}	2.34 ^{ns}	20.25 ^{ns}	39.57 ^{ns}	24021.78**	380.28 ^{ns}	99430.34**	
اسید سالیسیلیک	Salicylic Acid (SA)	2	0.0009 ^{ns}	0.058 ^{ns}	31.01*	24.54 ^{ns}	15.78 ^{ns}	232.02 ^{ns}	3063451.77**	
سelenیوم	Selenium (Se)	3	0.00032 ^{ns}	2.34 ^{ns}	8.67 ^{ns}	18.81 ^{ns}	4660.7 ^{ns}	1586.94*	22041.56 ^{ns}	
اسید سالیسیلیک × سelenیوم	SA×Se	6	0.0003 ^{ns}	0.83 ^{ns}	6.44 ^{ns}	282.22 ^{ns}	1235.47 ^{ns}	1363.67*	85561.63**	
خطا	Error	33	0.0005	1.12	9.56	205.53	3156.59	536.55	20062.57	
ضریب تغییرات (درصد)	CV (%)		2.31	4.38	13.43	27.32	34.22	2.68	10.92	

ns، * و **: به ترتیب عدم معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

.ns, * and **: no significant and significant at 5 and 1% levels of probability, respectively

جدول ۳ - مقایسه میانگین اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر صفات اندازه‌گیری شده

Table 3. Mean comparisons of effect of foliar application of salicylic acid and selenium on the measured traits

تیمارها Treatments	تعداد دانه Number of grain per pod	تعداد غلاف 100 grain weight (g)	محتوی نسبی آب برگ Number of grain per pod	میزان نشت یونی Ion leakage (dS.m ⁻¹)	وزن هکتولیتر Hectoliter weight (kg per 100liter)	عملکرد دانه Grain yield (kg.ha ⁻¹)
اسید سالیسیلیک Salicylic Acid						
بدون محلول پاشی	0	1.01a	24.11a	21.42b	51.31a	1193.19b
۱۰۰ میلی گرم در لیتر	100 mg.lit ⁻¹	1.01a	24.22a	23.89a	53.78a	1242.68b
۲۰۰ میلی گرم در لیتر	200 mg.lit ⁻¹	0.99a	24.11a	23.77a	52.32a	1453.74a
سلنیوم Selenium						
بدون محلول پاشی	0	1.00a	23.98a	22.06b	53.09a	1254.13a
۶ گرم در هکتار	6 g.ha ⁻¹	1.01a	22.82a	22.87a	50.59a	1282.77a
۱۲ گرم در هکتار	12 g.ha ⁻¹	1.00a	23.91a	24.13a	53.14a	1293.44a
۱۸ گرم در هکتار	18 g.ha ⁻¹	1.01a	23.90a	23.07a	53.06a	1355.81a

میانگین‌های ارائه شده با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانک در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی دار هستند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different on Duncan's multiple range test, 5%

معادل ۸۷/۸۵ کیلوگرم در صد لیتر از اثر متقابل ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توأم با ۶ و ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد. محلول پاشی ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم باعث کاهش وزن هکتولیتر در شرایط محلول پاشی ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک گردید (جدول ۴).

عملکرد دانه

با توجه به جدول تجزیه واریانس، اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر عملکرد دانه در سطح ۱٪ معنی دار شد (جدول ۲). با مصرف ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، عملکرد دانه افزایش ۱۴۵۳/۷۴٪ داری نشان داد. بیشترین عملکرد دانه معادل ۱۴۵۳/۷۴٪ داری افزایش نشان داد. تعداد روزن‌ها کیلوگرم در هکتار از محلول پاشی ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک حاصل شد. با مصرف ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، عملکرد دانه نسبت به شاهد به ترتیب ۴/۱۶٪ و ۴/۲۱٪ افزایش نشان داد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل فاکتورها نشان داد که با افزایش مقدار سلنیوم از ۶ تا ۱۸ گرم در هکتار در سطح ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، عملکرد دانه نسبت به شاهد افزایش نشان داد. بیشترین عملکرد دانه معادل ۱۶۸۷/۶٪ کیلوگرم در هکتار از اثر متقابل ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توأم با ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (بدون محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم) ۳۰/۷۹٪ افزایش نشان داد (جدول ۴).

نسبت به تنفس رطوبت بسیار حساس است و هر گونه تنفس رطوبت در این مرحله، سبب عقیم شدن گل‌ها و عدم تکامل بذرها می‌شود که نهایتاً وزن صد دانه، شاخص برداشت و در نتیجه عملکرد دانه کاهش می‌یابد. بهنظر می‌رسد کمبود رطوبت سبب انتقال آهسته مواد به دانه شده و از طرفی کاهش طول دوره رشد، سبب عدم پرشدن کامل دانه شده که منجر به کاهش وزن صد دانه در شرایط تنفس رطوبتی می‌شود (Rezaianzade, 2011). نتایج Madah *et al* (1993) نشان داد که وزن غلاف‌ها، وزن صد دانه، مقدار پروتئین محلول کل و عملکرد در گیاهان اسپری شده با غلظت ۷/۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بهطور معنی داری افزایش نشان داد. تعداد روزن‌ها در گیاهان اسپری شده با غلظت ۱/۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک نیز افزایش یافت. همچنین بافت اسکرانشیم در ساقه و آوند چوب در ریشه و تعداد کرک در برگ‌ها افزایش یافتدند.

وزن هکتولیتر

با توجه به جدول تجزیه واریانس صفات، اثر محلول پاشی سلنیوم و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر وزن هکتولیتر در سطح ۵٪ معنی دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین وزن هکتولیتر معادل ۸۶/۹۵٪ کیلوگرم در صد لیتر، با محلول پاشی ۶ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی دار نداشت. با محلول پاشی ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم، وزن هکتولیتر نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۳). بیشترین وزن هکتولیتر

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر صفات اندازه‌گیری شده

Table 4. Mean comparisons of interaction effect of salicylic acid and selenium on the measured traits

تیمارها Treatments	تعداد دانه در غلاف Number of grain per pod	وزن صد دانه 100 grain weight (g)	تعداد غلاف در بوته Number of grain per pod	محتوی نسبی آب برگ Relatively water content (%)	میزان نشت یونی Ion leakage (dS.m ⁻¹)	وزن هکتولیتر Hectoliter eight (kg per 100liter)	عملکرد دانه Grain yield (kg.ha ⁻¹)
اسید سالیسیلیک × سلنیوم							
Salicylic Acid×Selenium							
Sa1×Se1	1.01a	23.78ab	21.01ab	57.88a	192.03a	86.67a	1290.3bcd
Sa1×Se2	1.02a	24.38ab	22.03ab	45.41a	163.18a	86.00a	1213.0d
Sa1×Se3	1.01a	24.35ab	22.11ab	54.90a	166.05a	86.92a	1121.10d
Sa1×Se4	1.02a	23.94ab	20.55b	47.07a	131.10a	86.77a	1148.40d
Sa2×Se1	0.99a	23.94ab	21.71ab	54.88a	172.20a	87.00a	1276.2bcd
Sa2×Se2	1.09a	24.79ab	24.33ab	51.21a	202.48a	87.00a	1183.30d
Sa2×Se3	1.01a	24.18ab	24.05a	60.67a	141.75a	85.42a	1278.8bcd
Sa2×Se4	1.01a	23.96ab	23.49ab	48.36a	141.48a	85.75a	1231.4cd
Sa3×Se1	1.01a	24.22ab	23.46ab	46.53a	160.70a	86.37a	1195.9d
Sa3×Se2	0.99a	25.25a	22.24ab	55.17a	185.95a	87.87a	1451.0cb
Sa3×Se3	0.99a	23.19b	24.21ab	43.85a	155.73a	81.22b	1480.4b
Sa3×Se4	1.01a	23.79ab	25.17ab	45.73a	153.68a	87.87a	1687.6a

میانگین‌های ارائه شده با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانک در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different on Duncan's multiple range test, 5%
Selenium: Se, Salicylic Acid: SA , Se₁:0. Se₂:6 g.ha⁻¹. Se₃:12 g.ha⁻¹. Se₄:18 g.ha⁻¹, SA₁:0, SA₂:100 mg.l⁻¹, SA₃:200 mg.l⁻¹

هکتار سلنیوم از منبع سلنیت سدیم در ذرت در شرایط تنفس کمبود آب در مراحل شیری و خمیری نسبت به تیمارهای بدون سلنیوم در همین شرایط، عملکرد دانه را به ترتیب ۷/۳ و ۱۸/۲٪، عملکرد بیولوژیک را ۱۰/۲ و ۱۰/۴ و کارایی مصرف آب را ۶/۲ و ۱۶/۹٪ افزایش داد (Sajedi, 2011).

محتوی نسبی آب برگ و میزان نشت یونی سلول اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم و اثر متقابل آن‌ها بر محتوی نسبی آب برگ معنی‌دار نبود (جدول ۲). گزارش شده است که محلول پاشی اسید سالیسیلیک و گلایسین بتائین در هنگام غنچه‌دهی و گلدهی آفت‌آبرگدان، موجب افزایش مقدار آب نسبی برگ و پتانسیل اسمزی برگ و فشار تورگر در برگ گردید (Hussain *et al.*, 2008) (Sajedi, 2012).

نتایج تحقیقات (Kostopoulou *et al.*, 2010) نشان داد که در شرایط محدودیت رطوبتی با مصرف ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم از منبع سلنیت سدیم در گیاهچه‌های شبدر شیرین زرد، مقدار پناسیل آب برگ، نسبت تعرق و هدایت روزنگاری کاهش و باعث محدودیت سرعت جریان محلول آب در سیستم آوندی شد. در شرایط محدودیت رطوبتی، افزایش سلنیوم باعث افزایش محتوی پرولین گردید. بررسی‌های انجام شده در گندم بهاره تحت نتش خشکی نشان داد که سلنیوم مانع کم شدن رشد گیاهان در اثر کمبود آب گردید (Sajedi, 2012).

بر اساس پژوهش (Pakmehr *et al.* 1999) در لوبیا چشم بلبلی رقم پرستو، بذور پیش تیمارشده با غلظت ۲۷۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک در شرایط آبیاری منظم، تنفس کم آبی در مرحله گلدهی و تنفس کم آبی در مرحله غلاف‌بندی با عملکردهای ۴۴۲۴، ۳۴۳۷ و ۲۴۷۵ کیلوگرم در هکتار، دارای بیشترین عملکرد بودند. در تحقیقی دیگر گیاهان گندم تیمار شده با سالیسیلیک اسید، مستقل از غلظت سالیسیلیک اسید و سطح تنفس آب، به طور معمول محتوای رطوبتی، وزن خشک، فعالیت کربوکسیلازی رابیسکوئی، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کلروفیل کل بالاتری را در شرایط تیمار نشده نشان دادند (Singh *et al.*, 2003). در شرایط تنفس آبی، تیمار سالیسیلیک اسید، فعالیت نیترات ریداکتاز را کنترل می‌کند و محتوای پروتئین و نیتروژن برگ‌ها را در سطحی برابر با گیاهچه‌هایی که در شرایط آب کافی بودند، نگه می‌دارد. نتایج به نقش سالیسیلیک اسید در تنظیم پاسخ خشکی گیاهان دلالت می‌کنند و پیشنهاد می‌کنند که سالیسیلیک اسید می‌تواند به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد بالقوه برای بهبود رشد گیاه تحت نتش آبی مورد استفاده واقع شود. هم سالیسیلیک اسید و هم استیل سالیسیلیک اسید به طور مؤثری گیاهان گوجه فرنگی و لوبیا را بر علیه تنفس خشکی، در غلظت‌های ۰/۱ میلی‌مول و ۰/۵ میلی‌مول محافظت کردند، که نهایتاً باعث افزایش رشد و عملکرد گیاهان در این شرایط گردید (Senaranta *et al.*, 2002). محلول پاشی ۲۰ گرم در

Broadley *et al.* (2010) مبنی بر افزایش محتوای سلنیوم در گیاهان زراعی با افزایش مقدار سلنیوم در محیط کشت مطابقت دارد. نتایج حاصل از تحقیقات Pazurkiewicz- Kocot *et al.* (2008) نشان داد که بین محتوی سلنیوم اندام‌های ذرت (ریشه، مزوکوتیل و برگ‌ها) و غلظت سلنیوم در محیط کشت رابطه مثبتی وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط Djujic *et al.* (2000) مشخص شد که با محلول پاشی سلنیوم و تولید گندم غنی شده با سلنیوم، به طور مؤثری میزان سلنیوم پلاسمای ۵۳ درصد افزایش پس از ۶ هفته) افزایش یافت. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در خون افزایش و عوامل مؤثر در تنفس اکسیداتیو کاهش یافت. با کاربرد ۱۰ گرم در هکتار سلنات به صورت خاک مصرف در یک خاک لومی شنی زبر با اسیدیته معادل ۶، مقدار سلنیوم دانه جو از ۳۳ میکروگرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد به ۲۴۴ میکروگرم بر کیلوگرم افزایش یافت (Gupta *et al.*, 1993).

نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد بیشترین درصد پروتئین دانه معادل ۲۰/۴٪ با محلول پاشی ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد (جدول ۶). با وجود اینکه اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر درصد پروتئین معنی‌دار نبود اما تیمارها در گروه‌های مختلف قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش مقادیر سلنیوم در سطوح صفر و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، درصد پروتئین دانه افزایش یافت. بیشترین مقدار پروتئین دانه معادل ۲۰/۸٪ از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توانم با ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (بدون مصرف اسید سالیسیلیک و سلنیوم) ۳/۸٪ افزایش نشان داد (جدول ۷).

با توجه به جدول تجزیه واریانس، اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم و اثر متقابل آن‌ها بر میزان نشت یونی معنی‌دار نشد (جدول ۲). نتایج نشان داد که با کاربرد ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم، میزان نشت یونی سلول برگ نسبت به شاهد به ترتیب ۱۱/۶٪ و ۱۸/۸٪ کاهش یافت (جدول ۳). نتایج پژوهش Tadina *et al.* (2007) نشان داد که در شرایط تنفس کمود آب، هدایت روزنای در گندم سیاه به طور معنی‌داری کمتر شد در حالی که در گیاهانی که در شرایط تنفس کمود آب با سلنیوم تیمار شدند، هدایت روزنای به طور معنی‌داری افزایش یافت. در گیاهان تحت تنفس کمود آب که با سلنیوم تیمار شدند، کارایی فوتوشیمیایی فتوسیستم II به طور معنی‌داری افزایش یافت که احتمالاً به علت بهبود مدیریت آب گیاهان در طی دوره تیمار با سلنیوم بود. لذا به نظر می‌رسد که سلنیوم توانایی تنظیم وضعیت آب گیاه در شرایط تنفس خشکی را دارا می‌باشد که آن را به اثرات حفاظتی سلنیوم در افزایش ظرفیت جذب آب از طریق سیستم ریشه نسبت داده‌اند.

غلظت سلنیوم و پروتئین دانه

اثر سلنیوم بر غلظت سلنیوم و درصد پروتئین دانه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با افزایش مقدار سلنیوم، غلظت سلنیوم دانه افزایش یافت. با مصرف ۶، ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم، غلظت سلنیوم دانه نسبت به شاهد به ترتیب ۳/۵، ۲/۸ و ۶/۲ برابر افزایش نشان داد (جدول ۶). بیشترین غلظت سلنیوم دانه معادل ۲۱۱۹ قسمت در بیلیون از اثر متقابل ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توان با ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد غلظت سلنیوم دانه ۳/۹ برابر افزایش نشان داد (جدول ۷). این نتایج با نتایج

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده نخود در سطوح مختلف محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم

Table 5. Analysis of variance (Mean square) of measured traits of chickpea at different levels of foliar application of salicylic acid and selenium

منابع تغییر	SOV	درجه آزادی d.f	غلظت سلنیوم Selenium concentration	میزان پروتئین Protein content
تکرار	Replication	1	76501.04 ^{ns}	76501.042 ^{ns}
اسید سالیسیلیک	Salicylic Acid (SA)	2	37897.125 ^{ns}	75794.250 ^{ns}
سلنیوم	Selenium (Se)	3	** 2205348.819	6616040.458**
اسید سالیسیلیک × سلنیوم	SA×Se	6	103767.903 ^{ns}	622607.417 ^{ns}
خطا	Error	11	38561.1	0.37
ضریب تغییرات (درصد)	CV (%)		20.72	3.04

ns, * and **: به ترتیب عدم معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: no significant and significant at 5 and 1% levels of probability, respectively

جدول ۶ - مقایسه میانگین اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر صفات اندازه‌گیری شده

Table 6. Mean comparisons of effect of foliar application of salicylic acid and selenium on the measured traits

تیمارها Treatments	غلظت سلنیوم Selenium concentration (ppb)	میزان پروتئین Protein content (%)
اسید سالیسیلیک	Salicylic Acid	
بدون محلول پاشی	0	949.009a
۱۰۰ میلی گرم در لیتر	100 mg.lit ⁻¹	1015.38a
۲۰۰ میلی گرم در لیتر	200 mg.lit ⁻¹	877.75a
سلنیوم	Selenium	
بدون محلول پاشی	0	278.5c
۶ گرم در هکتار	6 g.ha ⁻¹	794.5b
۱۲ گرم در هکتار	12 g.ha ⁻¹	974.7b
۱۸ گرم در هکتار	18 g.ha ⁻¹	1741.1a

میانگین‌های ارائه شده با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار هستند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different on Duncan's multiple range test, 5%

جدول ۷ - مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سلنیوم بر صفات اندازه‌گیری شده

Table 7. Mean comparisons of interaction effect of salicylic acid and selenium on the measured traits

تیمارها Treatments	غلظت سلنیوم Selenium concentration (ppb)	میزان پروتئین Protein content (%)
اسید سالیسیلیک × سلنیوم	Salicylic Acid×Selenium	
بدون محلول پاشی سلنیوم و اسید سالیسیلیک	Sa1×Se1	531ef
بدون محلول پاشی اسید سالیسیلیک × ۶ گرم در هکتار سلنیوم	Sa1×Se2	774.5de
بدون محلول پاشی اسید سالیسیلیک × ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم	Sa1×Se3	1041cd
بدون محلول پاشی اسید سالیسیلیک × ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم	Sa1×Se4	1449.5bc
۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × بدون محلول پاشی سلنیوم	Sa2×Se1	180.5 f
۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × ۶ گرم در هکتار سلنیوم	Sa2×Se2	763.5 de
۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم	Sa2×Se3	998.5 cde
۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم	Sa2×Se4	2119 a
۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × بدون محلول پاشی سلنیوم	Sa3×Se1	124f
۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × ۶ گرم در هکتار سلنیوم	Sa3×Se2	845.5de
۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × ۱۲ گرم در هکتار سلنیوم	Sa3×Se3	884.5de
۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک × ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم	Sa3×Se4	1657b

میانگین‌های ارائه شده با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف معنی‌دار هستند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different on Duncan's multiple range test, 5%

Selenium: Se, Salicylic Acid: SA, Se₁:0, Se₂:6 g.ha⁻¹, Se₃:12 g.ha⁻¹, Se₄:18 g.ha⁻¹, SA₁:0, SA₂:100 mg.l⁻¹, SA₃:200 mg.l⁻¹

ترکیبات بر تعديل اثرات نامطلوب ناشی از تنفس رطوبتی می‌توان به کمیت و کیفیت قابل قبول محصول دست یافت.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که با مصرف ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک توأم با ۱۲ و ۱۸ گرم در هکتار سلنیوم در شرایط تنفس خشکی، به علت تأثیر این

منابع

1. Aman, A. 2004. The survey drought on yield, component yield and some of physiological traits in different genotypes of sunflower. The thesis of M.Sc. Faculty of Agriculture. Islamic Azad University. Karaj Branch. (In Persian with English Summary).
2. Artlip, T.S., and Wisniewski, M.E. 2002. Induction of proteins in response to biotic and abiotic stresses. In: PESSARAKLI, M. (Ed.) Handbook of plant and crop physiology. New York: Marcel Dekker. p. 657-679.
3. Ashraf, A., Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 56: 206-216.
4. ATSDR, 2003. Toxicological profile for selenium. Atlanta: US Department of Health and Pub; ic Services, Agency for Toxic Substances Disease Registry. Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp92-p.pdf>.
5. Broadley, M.R., Alcock, J., Alford, J., Cartwright, P., Foot, I., Fairweather-Tait, S.J., Hart, D.J., Hurst, R., Knott, P., McGrath, S.P., Meacham, M.C., Norman, K., Mowat, H., Scott, P., Stroud, J.L., Tovey, M., Tucker, M., White, P.J., Young, S.D., and Zhao, F.J. 2010. Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilization. Plant and Soil 332: 5-18.
6. Chu, J., Yao, X., and Zhang, Z. 2010. Responses of wheat seedlings to exogenous selenium supply under cold stress. Biol. Trace Elem. Res 136: 355-363.
7. Djanaguiraman, M., Devi, D.D., Shanker, A.K., Sheeba, A., and Bangarusamy, U. 2005. Selenium - an antioxidative protectant in soybean during senescence. Plant and Soil 272: 77-86.
8. Djuric, I.S., Jozanov-Stankov, O.N., Milovac, M., Jankovic, V., and Djermanovic, V. 2000a. Bioavailability and possible benefits of wheat intake naturally enriched with selenium and its products. Biological Trace Element Research 77 (3): 273-285.
9. Emami, A., 1996. Methods of Plant Analysis. Journal of Technical. No: 982. Soil and water research Institute. Vol1:126pp. (In Persian).
10. El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 45: 215-225.
11. Gupta, U.C., Winter, K.A., and Sanderson, J.B. 1993. Selenium content of barley as influenced by selenite- and selenate-enriched fertilizers. Communications in Soil Science and Plant Analysis 24 (11 and 12): 1165-1170.
12. Hussain, M., Farooq, M., and Malik, M.A. 2008. Glycine betaine and salicylic acid application improves the plant water relations, water use efficiency and yield of sunflower under different planting methods. Journal of Agronomy and Crop Science 194:193-199.
13. Hu, Q.H., Xu, J., and Pan, G.X. 2001. The effect of Se sprays on green tea quality. J. Sci. Food Agric 81: 1387- 1390.
14. Kahakachchi, C., Boakye, H.T., Uden, P.C., and Tyson J.F. 2004. Chromatographic speciation of anionic and neutral selenium compounds in Se-accumulating *Brassica juncea* (Indian mustard) and in selenized yeast. J. Chromatogr. A, 1054: 303-312.
15. Kostopoulou, P., Barbayiannis, N., and Basile, N. 2010. Water relations of yellow sweet clover under the synergy of drought and selenium addition. Plant Soil 330:65-71.
16. Kuznetsov, V.V., Kholodova, V.P., Kuznetsov, V.L.V., and Yagodin, B.A. 2003. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. Doklady Biological Sciences 390: 266-268.
17. Madah, S.M., Majd, A., Falahian, F., Sabagh Pour, S.H., and Chalbian, F. 2005. The survey effect of salicylic acid on resistance of chick pea seedling to *Ascochyta rabiei* and change of Proxidase and Catalase enzyme. The 4th congress of Biootechnology Iran Islamic republic in Kerman. (In Persian with English Summary).

18. Madah, S.M., Majd, A., Falahian, F., Sabagh Pour S.H., and Chalbian, F. 1993. The effect of Salicylic acid on yield and components yield and anatomy stricture chick pea plant. Journal of Base science. Islamic Azad University. 1 (62). (In Persian with English Summary).
19. Mehrabian Moghadam, N., Arvin, M.J., Khajoui Nezhad, G.H., and Maghsodi, K. 2011. Effect of Salicylic acid on growth and forage and grain yield maize under drought stress in field condition. Seed and Plant Production Journal. 27-2 (1): 41-55. (In Persian with English Summary).
20. Neill, M.C., Pilbeam, C.J., Haris, H.C., and Swift, R.S. 1996. Seasonal variation in the suitability of different methods for estimating biological nitrogen fixation by grain legumes under rainfed condition. Australia Journal Agriculture Research 47: 1061-1073.
21. Pakmehr, A., Rastgu, M., Shekari, R., Saba, J., Vazifeah, M., and Zangaraki, A. 1999. Effects of priming with Salicylic acid on grain yield and components yield cowpea under water deficit stress in reproductive stage. Iranian Journal of pulses research 2 (1): 53-64. (In Persian with English Summary).
22. Pazurkiewicz-Kocot, K., Kita, A., and Pietruszka, M. 2008. Effect of selenium on magnesium, iron, manganese, copper, and zinc accumulation in corn treated by Indole-3-acetic Acid. Soil Science and Plant Analysis 39: 2303-2318.
23. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., and Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.
24. Rezaianzadeh, A. 2009. Effect of supplemental irrigation on yield, yield components of three chickpea cultivars. MSc. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Summary).
25. Rezaiean Zadeh, A., Parsa, M., Gangali, A., and Nezami. A. 2011. Response of Yield, yield component chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.) to supplemental irrigation in different stages of phenology Stages. Journal of Water and Soil 25 (5): 1080-1095. (In Persian with English Summary).
26. Sajedi, N.A., and Gholinezhad, E. 2012. Response of yield and component yield dryland wheat varieties to selenium and salicylic acid. Iranian Journal of field crops Research 10 (3): 614-621. (In Persian with English Summary).
27. Sajedi, N.A., Madani, H., and Aeineband, A. 2011. Response of yield, component yield and water use efficiency in condition application of microelements and selenium under water deficit stress in maize. Scientific Journal of Agriculture 34 (1): 111-129. (In Persian with English Summary).
28. Sajedi, N.A., 2012. Selenium and its Ecophysiological Aspects in Plant, Scientific publishers of Islamic Azad University. Arak Branch. Iran. pp. 287.
29. Senaratna, T., Mackay, C., McKersie, B., and Fletcher, R. 1988. Uniconazole-induced chilling tolerance in tomato and its relationship to antioxidant content J. Plant physiol 133: 56-61.
30. Senaranta, T., Teuchell, D., Bumm, E., and Dixon, K. 2002. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation 30: 157-161.
31. Shekari, R., Pakmehr, A., Rastgu, M., Saba, J., Vazifeah, M., and Zangaraki. A. 2010. Effects of priming with salicylic acid on some of morphologic traits cowpea under water deficit stress in poding stage. Agricultural new technology. Agronomy and Horticultural Especial 4: 5-23.
32. Singh, B., and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation 39: 137-141.
33. Tadina, N., Germ, M., Kreft, I., Breznik, B., and Gaberseik, A. 2007. Effect of water deficit and selenium on common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) plants. Photosynthetica 45: 472-476.
34. Turner, N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant and Soil 58:336-339.
35. Wu, L., Enberg, A., and Biggar, J.A. 1994. Effects of elevated selenium concentration on selenium accumulation and nitrogen fixation symbiotic activity of *Melilotus indica* L. Ecotox Environ. Saf 27: 50-63.

36. Xiaoqin, Y., Jianzhou, C., and Guangyin, W. 2009. Effects of drought stress and selenium supply on growth and physiological characteristics of wheat seedlings. *Acta Physiol Plant* 31:1031-1036.

The effect of foliar application of salicylic acid and selenium on agronomic, physiological and quality characteristics of chickpea in rainfed condition

Cheraghi¹, A.M., Sajedi^{2*}, N.A. & Gomarian³, M.

1. M.Sc. in Agronomy, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran
2. Assistant Prof, Department of Agronomy and plant breeding, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
3. Assistant Prof, Department of Agronomy and plant breeding, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran,

Received: 01 January 2014

Accepted: 03 January 2015

Abstract

A factorial experiment based on randomized complete blocks design was carried out with four replications in 2011-2012 growing season. The experimental factors were foliar application of selenium in four levels 0, 6, 12 and 18 g.ha⁻¹ and foliar application of salicylic acid in three levels 0, 100 and 200 mg.L⁻¹. Results showed that foliar application of selenium at rate of 12 and 18 g.ha⁻¹ decreased ion leakage by 11.6 and 18.8% compared with control, respectively. The Mean comparison of treatments showed that maximum grain yield (1687.6 kg.ha⁻¹) was recorded from 200 mg.L⁻¹ salicylic acid along with 18 g.ha⁻¹ selenium that increased by 30.79% compared with control. The highest grain selenium concentration equal to 2119 ppb was obtained from 100 mg.lit⁻¹ salicylic acid along with 18 g ha⁻¹ selenium that increased by 3.9 times compared with control. The maximum grain protein (20.8%) obtained from 100 mg.lit⁻¹ salicylic acid along with 12 g.ha⁻¹ selenium treatment that increased by 3.8% compared with control.

Key words: Drought stress, Foliar application, Grain yield, Ion leakage, Sodium selenite.

* Corresponding Author: n-sajedi@iau-arak.ac.ir, Mobile: 09188629092

تأثیر پیش‌تیمار باکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر برخی پارامترهای رشدی و رنگدانه‌های فتوستنتزی دو رقم گیاه لوپیا سبز (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش شوری

هانیه فیروزی^۱، همت‌الله پیردشتی^{۲*} و سید جابر حسینی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد سبزیکاری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

۲- دانشیار، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۴

چکیده

حفظ محیط زیست و تولید محصولات کشاورزی سالم، در حال حاضر از اهداف مهم کشاورزی پایدار است. همچنین با توجه به فراوانی منابع آب و خاک شور در کشور، تحقیقی به منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر برخی از صفات مورفو‌لوزیکی و فیزیولوژیکی دو رقم گیاه لوپیا سبز در مقاومت به تنش شوری در آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۱ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل رقم در دو سطح (بومی و هیبرید)، تنش شوری در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر کلریدسیدیم) و همچنین پیش‌تیمار باکتری‌های محرک رشد در دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح باکتری حاوی آزو‌سپیریلیوم برازینس و ازتوباکتر کروکوکوم) بودند. صفات مورد اندازه‌گیری شامل: وزن تر و خشک برگ، سطح و تعداد برگ، تعداد و طول دمبرگ، وزن تر و خشک دمبرگ، کلروفیل $a+b$ ، کاروتونئید، SPAD و وزن تر غلاف که عملکرد در نظر گرفته شد. نتایج حاکی از آن بود که اثر متقابل رقم و باکتری در تمامی رنگدانه‌های مورد مطالعه و همچنین صفات وزن تر، خشک بوته و سطح برگ معنی دار بود. در این برهم‌کنش، تلقیح باکتری باعث افزایش ۱۱ درصدی سطح برگ نسبت به تیمار عدم تلقیح شد. اثرات متقابل رقم و شوری نیز در تمامی رنگدانه‌های مورد مطالعه بهجز عدد SPAD و صفات مورفو‌لوزیک (وزن تر ساقه، وزن تر و خشک برگ، سطح برگ، وزن خشک دمبرگ) و عملکرد بیولوژیک غلاف اثر معنی داری داشت. حداکثر عملکرد بهمیزان ۳/۶ گرم در بوته در تیمار رقم هیبرید و شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. اثر متقابل باکتری و شوری علاوه بر تمامی پارامترهای بیوشیمیایی مورد مطالعه بهجز کاروتونئید، صفات وزن تر و سطح برگ، وزن تر و خشک دمبرگ، و عملکرد معنی دار بودند. تیمار تلقیح باکتری در تمامی سطوح مورد بررسی بر عملکرد مؤثر بود و تیمار ۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر و تلقیح، بیشترین عملکرد غلاف را به خود اختصاص داد که نسبت به تیمار عدم تلقیح ۳۴ درصد افزایش داشت. در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر نقش مفید باکتری‌های افزاینده رشد در فرآیندهای بیوشیمیایی، مورفو‌لوزیکی و همچنین بهبود رشدی گیاه بهویژه در شرایط تنش شوری ملایم است.

واژه‌های کلیدی: آزو‌سپیریلیوم، ازتوباکتر، تلقیح، کلروفیل، هیبرید

فسفر، کلسیم و پتاسیم است و با این که از کالری کمی برخوردار است، اما به خاطر داشتن ویتامین‌ها و مواد معدنی از نظر تغذیه‌ای بسیار مقوی می‌باشد (Kiyani, 2009). شوری پس از خشکی مهم‌ترین تنش محیطی در سطح جهان بهویژه مناطق خشک و نیمه‌خشک و از جمله ایران است. میلیون‌ها هکتار از اراضی در سراسر جهان شورتر از آن هستند که از نظر اقتصادی بتوان از آن‌ها محصول به‌دست آورد (Banaei et al., 2004). از آنجایی که حل مسأله شوری و رفع مشکل آن مستلزم صرف تلاشی درازمدت و هزینه هنگفت است، بنابراین آنچه که در حال حاضر از اهمیت ویژه‌ای

مقدمه

لوپیا سبز با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L. گیاهی از خانواده بقولات می‌باشد که در بین جبوهات از نظر سطح زیرکشت و ارزش اقتصادی مقام اول را دارد. همچنین با داشتن ۲۰-۲۵ درصد پروتئین و ۵۰-۵۶ درصد کربوهیدرات دومین لگوم مهم بعد از نخود در سراسر دنیا محسوب می‌شود (McClean et al., 2004; Calvo et al., 2014). لوپیا سبز تازه سرشار از ویتامین‌های A, B, C و مواد معدنی مانند آهن،

*نویسنده مسئول: h.pirdashti@sanru.ac.ir

حاضر بهمنظور بررسی بهبود شرایط رشدی گیاه لوپیاسبز در تنش شوری با مصرف کودهای بیولوژیک طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش بهصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور و چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۱ انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل تنش شوری در چهار سطح (۰، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر) با محلول حاوی نمک کلرید سدیم، رقم در دو سطح (بومی و هیبرید) و همچنین تلقیح باکتریایی در دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح با کود بیولوژیک^۱ (حاوی آزوپیریلیوم برازیلنس و ازتوپاکتر کروکوکوم و جمعیت تقریبی باکتری حدود ۱۰^۸ در هر میلی‌لیتر) بود. ابتدا باکتری‌های محرك رشد مورد نیاز این آزمایش در آزمایشگاه کشت شد. پس از تأیید زنده بودن باکتری‌ها محلول ۳۰ درصدی آن جهت تلقیح بذر آماده گردید. برای اعمال پیش‌تیمار PGPR بذور بهمدت یک ساعت در محلول مورد نظر خیسانده شدند و سپس در سایه خشک گردید. این تیمار پیش‌رویشی بوده و قبل از کاشت اعمال و در مقابل، بذور شاهد در آب مقطر خیسانده شد. در مرحله بعد بذور در گلدان کشت شدند. برای این آزمایش گلدان‌هایی با قطر ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد و در هر گلدان از ۱۰ کیلوگرم خاک آون خشک استفاده گردید. خاک مورد استفاده حاوی نسبت ۱:۲ خاک مزرعه و ماسه بود که پس از الک کردن کاملاً مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد (بدون استفاده از فشار هوایی) استریل شد (Kungu et al., 2008). در طول دوره رشد، آبیاری بهصورت روزانه جهت نگهداری رطوبت در حد ظرفیت زراعی انجام شد و برای آبیاری تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. بعد از ظهر اولین برگ سه برگچه‌ای (سه هفته پس از جوانه‌زنی بذرها) تنش شوری اعمال و پنج هفته پس از اعمال تنش نمونه‌برداری انجام شد. صفات مورد اندازه‌گیری شامل: وزن تر و خشک برگ، سطح و تعداد برگ، تعداد و طول دمبرگ، وزن تر و خشک دمبرگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتونئید، SPAD و وزن تر غلاف که عملکرد در نظر گرفته شد. ابتدا جهت تعیین وزن تر از ترازویی با دقیق ۰/۰۰۱ گرم استفاده گردید و سپس وزن خشک نمونه‌ها پس از مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون بر حسب گرم در بوته محاسبه گردید. سطح برگ با ترسیم بر کاغذ میلی‌متری و بر حسب سانتی‌متر مربع محاسبه شد. طول

برخوردار می‌باشد، برنامه‌ریزی مناسب برای حل مشکل شوری از طریق تلاش برای یافتن و پرورش گیاهانی است که بتوانند در شرایط شوری محیط نیز عملکرد قابل قبولی داشته باشند (Ipek et al., 2014). اثرات شوری بر گیاهان بسیار پیچیده می‌باشد. مهم‌ترین واکنش گیاه به افزایش شوری خاک، کاهش میزان رشد است (Shiyab et al., 2013). شوری موجب محدود نمودن فعالیت کلروفیل‌ها، آنزیم‌ها، سنتز پروتئین‌ها و اختلال در وظیفه غشای کلروپلاست می‌شود. در شرایط تنش شوری بخشی از انرژی تولید شده توسط گیاه به جای اینکه صرف رشد گیاه شود، صرف نگه‌داری گیاه در شرایط تنش Garrido et al., 2014 می‌شود و بهمین دلیل رشد آن کاهش می‌یابد (Garrido et al., 2014). شوری با ایجاد سه محدودیت عمدۀ باعث کاهش رشد می‌گردد: ۱) کاهش پتانسیل آب در منطقه ریشه که موجب کاهش آب می‌شود؛ ۲) مسومومیت ناشی از یون‌های سدیم، کلرید و دیگر یون‌ها؛ ۳) عدم توازن عناصر غذایی ناشی از کاهش جذب یا انتقال به سیستم هوایی و یا هر دو (Gama et al., 2007).

امروزه استفاده از کودهای بیولوژیک (میکروارگانیسم‌های مانند قارچ و باکتری) بهمنظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش عملکرد، مسئله مهمی در جهت حرکت به سمت کشاورزی پایدار می‌باشد. مطالعات پژوهشگران نشان داده است گروهی از میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر وجود دارند که بهطور مستقیم و غیرمستقیم سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند، این میکروارگانیسم‌ها به ریزوباکتری‌های محرك رشد گیاه (PGPR) معروفند (Ma et al., 2011). ریزوباکتری‌های محرك رشد گیاه از مهم‌ترین کودهای بیولوژیک بوده و با افزایش فراهمی زیستی عناصر غذایی، نظیر ثبت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و کاهش یا پیشگیری از بروز اثرات زیان‌آور بیماری‌زایی میکروارگانیسم‌های دیگر از طریق تولید انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و سیدروفورها سبب افزایش رشد گیاهان شده و عملکرد گیاهان زراعی را بهبود می‌بخشد (Chaiharn et al., 2008). مطالعات نشان می‌دهد که کاربرد باکتری‌های محرك رشد علاوه بر فراهمی عناصر غذایی از تشدید تنش اسمزی که در اثر افزودن کودهای شیمیایی به زمین‌های شور اتفاق می‌افتد، جلوگیری به عمل می‌آورند این در حالی است که استفاده از کودهای شیمیایی در اکوسیستم‌های زراعی نه تنها باعث تخرب ساختار فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک می‌شود، بلکه کیفیت محصولات تولید شده را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Koochaki et al., 2008).

2- *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum*

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

با توجه به جدول تجزیه واریانس مربوط به صفات مورفولوژیک (جدول ۲)، اثر ساده رقم بر صفات وزن تر و خشک برگ، سطح برگ، تعداد، طول و وزن خشک دمبرگ معنی دار بود. تیمار تلقیح باکتری بر صفات وزن تر و سطح برگ در سطح یک درصد اثر معنی داری داشت. اثر سطح مختلف تنفس شوری بر تمامی پارامترهای مورفولوژیک برگ و دمبرگ معنی دار بود. بین رقم و باکتری از نظر صفات وزن تر و خشک برگ ($P \leq 0.05$)، سطح برگ ($P \leq 0.01$) و همچنین بین رقم و شوری از نظر صفات وزن تر و خشک برگ، سطح برگ و وزن خشک دمبرگ ($P \leq 0.01$) بر همکنش معنی داری مشاهده شد. علاوه بر این، اثر متقابل باکتری و شوری بر صفات وزن تر برگ و وزن خشک دمبرگ ($P \leq 0.01$)، سطح برگ و وزن تر دمبرگ ($P \leq 0.05$) معنی دار بود. همچنین بر همکنش سه گانه و معنی داری بین رقم، باکتری و شوری از نظر همه صفات اندازه گیری شده وجود داشت.

دمبرگ با استفاده از خط کش و بر حسب سانتی متر اندازه گیری و برای اندازه گیری محتوای نسبی کلروفیل برگ^۱ (SPAD) از دستگاه کلروفیل متر استفاده شد. با این روش ابتدا دستگاه کالیبره و برگ مورد نظر (قسمت میانی آخرین برگ کاملاً توسعه یافته و برای همه گلدانها در یک موقعیت) را میان دو لبه دستگاه قرار گرفته و عدد ظاهر شده قرائت گردید. در نهایت میانگین اعداد قرائت شده به آن تیمار اختصاص داده شد. جهت اندازه گیری رنگدانه های فتوسنتزی از روش بورا و همکاران (Porra et al., 1989) استفاده شد. تجزیه آماری داده های آزمایش با کمک نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین ها برای صفات مورد ارزیابی با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

الف- صفات مورفولوژیک

جدول ۱- میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورفولوژیک برگ و دمبرگ گیاه لوپیا سبز

Table 1. Mean square of experimental treatments on morphological traits leaf and petiol in green bean

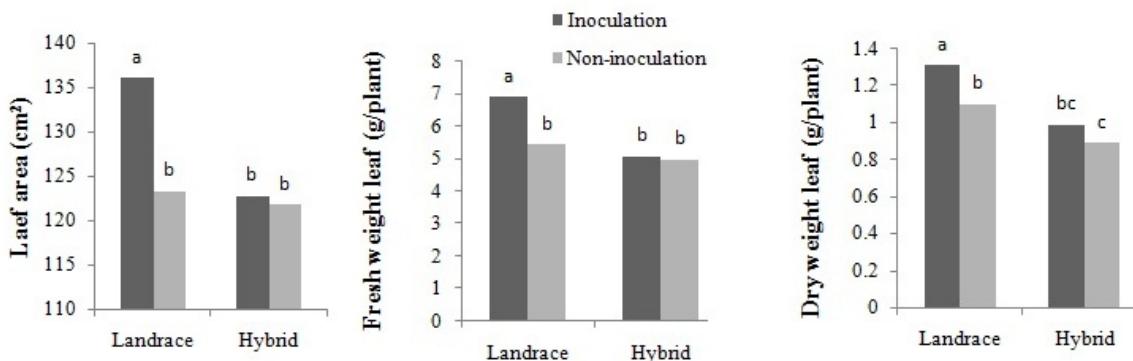
(Petiol)				دمبرگ				Leaf				برگ				درجه آزادی	منابع تغییرات
طول	وزن خشک	Dry weight	Fresh weight	تعداد	سطح	وزن خشک	Dry weight	تعداد	سطح	وزن تر	وزن تر	Number	df	Source of variation			
Length	Dry weight	Fresh weight	Number		Area	Dry weight	Fresh weight	Number									
355.20**	0.010*	0.13 ^{ns}	7.56*		880.81**	1.13**	21.10**	17.18 ^{ns}		1	Cultivar (C)	رقم					
116.70 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.05 ^{ns}	1.56 ^{ns}		758.33**	0.04 ^{ns}	9.62**	3.13 ^{ns}		1	Bactria (B)	باکتری					
1370.82**	0.023**	1.79**	17.79**		7005.91**	0.86**	55.40**	119.50**		3	Salinity (S)	شوری					
25.47 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.013 ^{ns}	3.56 ^{ns}		548.10**	0.36*	7.23*	0.80 ^{ns}		1	C × B	رقم × باکتری					
52.87 ^{ns}	0.008**	0.30 ^{ns}	1.77 ^{ns}		1975.88**	0.25**	7.92**	9.20 ^{ns}		3	C × S	رقم × شوری					
99.78 ^{ns}	0.029**	0.38*	3.18 ^{ns}		254.07*	0.021 ^{ns}	4.92**	8.71 ^{ns}		3	B × S	باکتری × شوری					
															× رقم		
162.96**	0.009**	0.34*	4.12*		980.34*	0.32**	17.64**	62.27**		3	C × B × S	باکتری × شوری					
															× خطا		
40.1	0.001	0.12	1.3		69.1	0.03	0.7	7.3		48	Experimental error	آزمایشی					
14.70	22.23	27.93	22.80		6.60	18.53	15.00	18.96		-	CV (%)	ضریب تغییرات (%)					

ns, *, **: No significant, significant at 5 and 1% levels of probability

* و ** معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، ns غیر معنی دار در سطح ۵ درصد

باکتری‌های محرک رشد در گیاه سیاه‌دانه نشان داده شد که میزان سطح برگ و وزن تر و خشک بوته در حضور باکتری نسبت به تیمار عدم تلقیح افزایش یافت که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Khorramdel *et al.*, 2008). بهبود رشد گیاه در اثر آغشته کردن بذر با کودهای بیولوژیک می‌تواند ناشی از تأثیر این میکروارگانیسم‌ها روی فعالیت‌های فیزیولوژیک و متابولیک گیاه و نیز تثبیت نیتروژن باشد و بخشی دیگر از این اثر افزایشی، بهبود کارآیی گیاه در اثر ترشح هورمون‌هایی نظیر سیتوکینین و اکسین می‌باشد که جذب آب و مواد غذایی را تحریک می‌کند. از سوی دیگر مطالعات نشان داد که باکتری با تولید جیبرلین سبب افزایش تارهای کشنده می‌شود، لذا جذب عناصر غذایی از خاک بهتر صورت گرفته و رشد گیاه بهبود می‌یابد (Zahir *et al.*, 2004). بدین ترتیب به‌نظر می‌رسد تلقیح با باکتری‌های تلقیح‌کننده از طریق افزایش سطح جذب ریشه و توسعه سیستم ریشه‌ای موجب افزایش رشد شده که این امر در نهایت بهبود سطح برگ و وزن تر و خشک را به‌دبی داشته است.

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر صفات مورفولوژیک برگ و دمبرگ گیاه لوبيا سبز با توجه به نمودار مقایسه میانگین، مشاهده شد که تلقیح باکتری موجب افزایش وزن تر و خشک و سطح برگ در حضور باکتری تیمار عدم تلقیح (شاهد) در رقم محلی شد (شکل ۱). نتایج نشان داد که تلقیح باکتری در صفات فوق روى رقم گیاه مربوط اثرگذار نبود که احتمالاً این امر به ژنتیک و رقم گیاه مربوط است که نیاز به بررسی بیشتر و آزمایش‌های تکمیلی دارد. میزان سطح برگ در شرایط تلقیح نسبت به عدم تلقیح در سطح بالاتری بود، به‌طوری که بیشترین میزان سطح برگ (۱۳۶/۰۳ سانتی‌متر مربع) در تیمار رقم محلی و تلقیح باکتری مشاهده شد که نسبت به سطح عدم تلقیح ۱۱ درصد بیشتر بود. همچنین روند تغییرات در صفت وزن تر برگ همانند صفت سطح برگ بود، به‌طوری که تیمار رقم محلی و تلقیح باکتری بالاترین میزان وزن تر برگ را به‌خود اختصاص داد. حداقل وزن خشک برگ در تیمار رقم محلی و تلقیح باکتری و حداقل میزان این پارامتر با حدود ۳۲ درصد کاهش در رقم هیبرید و عدم تلقیح باکتری مشاهده شد. در این راستا، در بررسی تأثیر



شکل ۱- اثر تلقیح باکتری بر صفات سطح برگ و وزن تر و خشک بوته در ارقام محلی و هیبرید لوبيا سبز

Fig. 1. Effect of bacteria inoculation on leaf area, fresh and dry weights of leaf in landrace and hybrid cultivars of green bean

به شاهد کاهش یافت. بیشترین میزان این صفت در تیمار شاهد و رقم محلی (۱/۵۶ گرم) وجود داشت و تیمار شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و رقم هیبرید (۰/۵۷ گرم) از کمترین میزان وزن خشک برگ برخوردار بود. تیمار رقم محلی و شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر بیشترین میزان وزن خشک دمبرگ را به‌خود اختصاص داد که با تیمار شاهد و رقم محلی و همچنین تیمار شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر و رقم هیبرید در یک سطح آماری قرار گرفتند. همچنین کمترین وزن خشک دمبرگ مربوط به تیمار رقم هیبرید و شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که با تیمار رقم محلی در همین سطح شوری در یک

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و شوری بر پارامترهای مورفولوژیک برگ و دمبرگ گیاه لوبيا سبز مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و شوری (جدول ۳) نشان داد که با افزایش سطح شوری وزن تر برگ در رقم محلی حدود ۴۵ درصد کاهش یافت، به‌طوری که تیمار شاهد و رقم محلی دارای بیشترین مقدار این صفت بود که با تیمار شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر و رقم محلی در یک سطح قرار گرفت. کمترین میزان وزن تر برگ در رقم هیبرید و شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. به‌طور کلی با افزایش تنفس شوری وزن خشک برگ در هر دو رقم هیبرید و محلی نسبت

می‌توان گفت که شوری بر اکثر پارامترهای مورفولوژیک برگ در هر دو رقم هیبرید و محلی نسبت به شاهد تأثیرگذار بود که نتایج این آزمایش با نتایج نورانی آزاد (Norani Azad, 2008) در بررسی تأثیر سطوح شوری بر خصوصیات مورفولوژیک گیاه شوید و لاؤلی و همکاران (Lovelli *et al.*, 2012) در گیاه گوجه‌فرنگی مطابقت داشت. علاوه بر این در بررسی اثرات تنفس شوری بر برخی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک چندگرند کاهش معنی‌داری در وزن خشک گیاه مشاهده گردید. بنا به گزارش محققان کاهش وزن گیاه تحت تنفس شوری امری ثابت شده است که علت آن نیز به خاطر وجود شرایط اسمزی در منطقه ریشه، کاهش میزان جذب آب توسط گیاه و در نتیجه کاهش رشد و بهطور کلی کاهش وزن گیاه می‌باشد (Emadi *et al.*, 2009). به نظر می‌رسد رشد اندام هوایی بر اثر شوری، به‌علت اثر بازدارندگی آن روی تقسیم سلولی و توسعه نقطه رویش، جوانه‌ها و مریستم‌های انتهایی کاهش می‌یابد. از سوی دیگر تجمع بالای نمک در برگ‌ها، افزایش میزان تعرق و کاهش سطح برگ را به همراه دارد (Maghsoudi & Maghsoudi, 2008).

گروه مشترک قرار گرفت. با افزایش سطوح شوری از میزان سطح برگ در رقم هیبرید بهطور چشمگیری کاسته شد. حداکثر سطح برگ در رقم محلی و شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد که با تیمار شاهد و رقم هیبرید در یک گروه مشترک قرار گرفت. در این مورد به نظر می‌رسد رقم محلی تا دامنه مشخصی از تنفس شوری را از طریق مکانسیم‌های خاصی نظیر افزایش سطح برگ (جدول ۲) کنترل می‌کند لیکن با افزایش بیش از اندازه‌ی شوری و اثرات سوء آن بر ساختار کلروفیل (جدول ۴) و تخریب بافت گیاه، سطح برگ نیز کاهش می‌یابد. محققان در پژوهشی افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنفس ملایم را به افزایش وزن مخصوص برگ نسبت دادند (Taiz & Zeiger, 2001) تر برگ متعلق به تیمار رقم محلی بود و از آنجایی که افزایش وزن تر افزایش سطح برگ را به دنبال خواهد داشت، می‌توان این مورد را یکی از عوامل افزایش غیرمنتظره سطح برگ در سطح ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر دانست. در این راستا بین سطح برگ و وزن تر برگ همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌داری (r=0.77***) مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشد). در مجموع

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و شوری بر پارامترهای مورفولوژیک برگ و دمبرگ گیاه لوپیا سبز

Table 2. Mean comparison of interaction effect between cultivar and salinity on morphological traits of leaf and petiol in green bean

Leaf area (cm ²)	Petiol dry weigh	Leaf dry weight (g.plant ⁻¹)	Leaf fresh weight	Treatment		Timmer رقم	Cultivar
				شوری	Salinity (dS.m ⁻¹)		
127.20 ^d	0.24 ^a	1.56 ^a	7.71 ^a	0		محلي	Landrace
145.91 ^a	0.18 ^b	1.15 ^b	6.96 ^{ab}	2.5			
132.53 ^{cd}	0.25 ^a	1.12 ^b	5.79 ^d	5			
113.03 ^e	0.13 ^c	0.99 ^{bc}	4.27 ^e	7.5			
141.49 ^{ab}	0.18 ^c	1.16 ^b	5.82 ^d	0		هيبريد	Hybrid
137.12 ^{bc}	0.21 ^{ab}	0.94 ^{bc}	6.80 ^{bc}	2.5			
133.82 ^{b-d}	0.18 ^b	0.86 ^c	6.00 ^{cd}	5			
76.55 ^f	0.13 ^c	0.57 ^d	1.52 ^f	7.5			

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد با یکدیگر ندارند

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability levels

دمبرگ با میانگین ۱/۶۵ گرم به تیمار عدم تلقیح باکتری و شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر تعلق داشت که با تیمار تلقیح و شاهد و همچنین تیمار عدم تلقیح باکتری و شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. در مقابل، کمترین میزان این صفت با کاهش چشمگیری مربوط به تیمار عدم تلقیح باکتری و شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. در صفت وزن خشک دمبرگ، بهطور کلی با افزایش سطوح شوری، روند نزولی مشاهده شد. بیشترین میزان این صفت در تیمار شاهد (سطح صفر دسی‌زیمنس بر متر) و تلقیح باکتری مشاهده شد که نسبت به تیمار عدم تلقیح ۷/۵ درصد اختلاف داشت. از سوی دیگر شوری ۷/۵

مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری و شوری بر پارامترهای مورفولوژیک برگ و دمبرگ گیاه لوپیا سبز مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین وزن تر برگ در شرایط تلقیح باکتری به میزان ۸/۰۲ گرم مربوط به تیمار شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که نسبت به تیمار عدم تلقیح در همین سطح شوری ۴۰ درصد افزایش داشت (جدول ۴). در سطوح بالاتر شوری تفاوت چشمگیری در میزان وزن تر برگ وجود داشت، بهطوری که کمترین میزان وزن تر برگ در هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح باکتری مربوط به سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. حداکثر وزن تر

شور و حضور باکتری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت که با نتایج این آزمایش هم خوانی داشت. باکتری‌های محرک رشد در روش غیر مستقیم با استفاده از مکانیسم‌های خاصی اثرات مضر بیماری‌گرهای گیاهی را تعدیل نموده و به‌این طریق موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند. اما در روش مستقیم این باکتری‌ها با تثبیت آزادی نیتروژن، تولید متabolیت‌های مؤثر در رشد گیاه در کاهش اثرات سوء اتیلن تنشی، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند (Han & Lee, 2005). در همین راستا، یکی از دلایل کاهش یا عدم رشد گیاه در شرایط تنش‌های غیرزنده چون شوری، به تجمع اتیلن در بافت‌ها نسبت داده شد که مکانیسم اصلی به کار گرفته شده توسط باکتری‌های محرک رشد در کاهش میزان اتیلن می‌باشد (Penrose & Glick, 2003).

همچنین، باکتری‌های محرک رشد با تولید سیدروفورها و مواد کلات‌کننده میزان فراهمی عناصر کم‌صرف در شرایط شور را افزایش می‌دهند (Cheng *et al.*, 2007) که این مسئله باعث می‌شود تا گیاهان دامنه وسیعی از تنش‌های محیطی را تحمل نمایند (Gillick *et al.*, 2001).

دسى‌زیمنس بر متر و عدم تلقیح باکتری با تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارای کمترین میزان میزان پارامتر بود که با تیمار تلقیح و شوری ۷/۵ دسى‌زیمنس بر متر و همچنین تیمار عدم تلقیح و شوری پنج دسى‌زیمنس بر متر در یک گروه مشترک قرار گرفتند. بین تیمارهای شاهد، شوری ۲/۵ و پنج دسى‌زیمنس بر متر تفاوت چندانی از لحاظ میزان سطح برگ در شرایط تلقیح باکتری وجود نداشت. بیشترین سطح برگ در تیمار شاهد و تلقیح باکتری وجود داشت که با تیمارهای تلقیح باکتری و شوری ۲/۵ و پنج دسى‌زیمنس بر متر و همچنین تیمار عدم تلقیح و شاهد در یک سطح آماری قرار گرفتند. شوری ۷/۵ دسى‌زیمنس بر متر دارای کمترین میزان سطح برگ در هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح باکتری بود (جدول ۴). می‌توان گفت که در تیمارهای کاربرد باکتری میزان پارامترهای مورفولوژیک نسبت به تیمار عدم تلقیح باکتری افزایش یافت، به‌طوری‌که سطح برگ با افزایش شوری کاهش نشان داد اما تلقیح باکتری باعث افزایش این صفت شد. در بررسی کاربرد دو گونه باکتری محرک رشد تحت تنش شوری در گیاه کاهو نشان داده شد که میزان سطح برگ و وزن تر و خشک بوته در محیط

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابله باکتری و شوری بر پارامترهای مورفولوژیک برگ و دمبرگ گیاه لوبيا سبز

Table 3. Mean comparison of interaction effect between bactria and salinity on morphological traits of leaf and petiol in green bean

Leaf area (cm ²)	Petiol dry weigh	Leaf fresh weight (g.plant ⁻¹)	وزن تر برگ	Treatment	تیمار
			وزن تر برگ	شوری Salinity (dS.m ⁻¹)	باکتری Bactria
141.57 ^a	0.27 ^a	1.58 ^{ab}	6.97 ^b	0	تلقیح
140.49 ^a	0.16 ^{cd}	1.26 ^{bc}	8.02 ^a	2.5	
138.03 ^a	0.20 ^{bc}	1.29 ^{bc}	5.71 ^d	5	
97.50 ^c	0.15 ^{de}	0.98 ^d	3.28 ^e	7.5	
141.70 ^a	0.22 ^b	1.60 ^{ab}	6.56 ^{bc}	0	عدم تلقیح
129.15 ^b	0.23 ^b	1.65 ^a	5.74 ^{cd}	2.5	
127.12 ^b	0.15 ^{de}	1.23 ^{cd}	6.07 ^{cd}	5	
92.08 ^c	0.11 ^c	0.64 ^e	2.51 ^e	7.5	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد با یکدیگر ندارند

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability levels

شده (کلروفیل *a*، *a+b*، *b*، کاروتنوئید و عدد SPAD) را به‌طور کاملاً معنی‌داری ($P \leq 0.01$) تحت تأثیر قرار داد. اثر متقابله رقم و باکتری در همه صفات و اثر متقابله رقم و شوری در تمامی صفات به جز عدد SPAD معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابله باکتری و شوری در تمامی صفات اندازه‌گیری شده به جز کاروتنوئید معنی‌دار شد.

ب- صفات فیزیولوژیک

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به رنگدانه‌های فتوسنترزی گیاه لوبيا سبز نشان داد که اثر ساده رقم در غلظت کلروفیل *a* و *a+b* و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). تیمار تلقیح باکتری در غلظت کلروفیل *a* و کاروتنوئید در سطح یک درصد اثر معنی‌داری داشت. با این وجود، تنش شوری تمامی رنگدانه‌های فتوسنترزی اندازه‌گیری

جدول ۴- میانگین مربعات اثر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوبیا سبز

Table 4. Mean square of experimental treatments on physiological traits in green bean

SPAD عدد	کاروتینوئید	<i>a + b</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a</i>	درجه آزادی	منابع تغییرات	منابع تغییرات
SPAD value	Carotenoid	Chl <i>a+b</i>	Chl <i>b</i>	Chl <i>a</i>	df	Source of variation	Source of variation
152.52 ^{ns}	1.51**	19.06**	12.19**	0.55**	1	Cultivar (C)	رقم
156.25 ^{ns}	3.07**	0.52 ^{ns}	0.89 ^{ns}	0.61**	1	Bactria (B)	باکتری
26801.82**	1.10**	61.18**	28.49**	14.01**	3	Salinity (S)	شوری
449.44*	0.00009*	4.49**	25.74**	0.18*	1	C × B	رقم × باکتری
61.30 ^{ns}	0.0023*	10.72**	4.28**	0.48**	3	C × S	رقم × شوری
457.28**	0.0041 ^{ns}	1.81*	2.95**	1.11**	3	B × S	باکتری × شوری
721.88**	0.0033 ^{ns}	6.75**	8.22**	0.36**	3	C × B × S	رقم × باکتری × شوری
54.01	0.0031	0.52	0.64	0.03	48	Experimental error	خطای آزمایشی
13.12	4.69	10.85	12.30	15.70	-	CV (%)	ضریب تغییرات (%)

* و ** معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، ns غیر معنی دار در سطح ۵ درصد

هیبرید و عدم تلقیح باکتری مشاهده شد. در بین تمامی تیمارها از لحظه میزان کاروتینوئید اختلاف قابل ملاحظه ای مشاهده شد، به طوری که بیشترین غلظت در تیمار محلی و تلقیح باکتری و کمترین غلظت در تیمار هیبرید و عدم تلقیح باکتری وجود داشت. تلقیح باکتری در محتوای نسبی کلروفیل برگ (SPAD) در رقم محلی اثرگذار نبود اما در مقابل تلقیح باکتری در رقم هیبرید با ۱۶ درصد افزایش نسبت به تیمار عدم تلقیح بیشترین میزان عدد SPAD را نشان داد. بر اساس نتایج همبستگی، بین کلروفیل *a+b* و SPAD همبستگی مثبت و کاملاً معنی داری ($r=0.67^{**}$) وجود داشت (داده ها نشان داده نشد). در این زمینه نتایج محققان نشان داد که تلقیح باکتریایی در گیاه آفتابگردان، موجب افزایش غلظت کلروفیل و کاروتینوئید شد. در واقع می توان گفت که باکتری آب و مواد غذایی بیشتری را به صورت بهینه در اختیار گیاه قرار داده است که در نتیجه میزان ساخت رنگیزه ها را افزایش داده و انتقال آب و مواد فتوسنتزی را در گیاه تسهیل می نماید (Marius *et al.*, 2005).

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوبیا سبز

با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۶)، تلقیح باکتری در هر دو رقم هیبرید و محلی باعث افزایش اکثر رنگدانه های مورد مطالعه شد. کمترین غلظت کلروفیل *a* به میزان ۰/۸۹ میکروگرم در میلی لیتر در تیمار رقم هیبرید و عدم تلقیح باکتری مشاهده شد و سایر تیمارها در یک سطح آماری قرار گرفتند. بیشترین غلظت کلروفیل *b* در رقم محلی و تلقیح باکتری (۷/۶۹ میکروگرم در میلی لیتر) و کمترین غلظت در تیمار رقم هیبرید و عدم تلقیح باکتری در میلی لیتر مشاهده شد. همچنین تیمار رقم محلی و عدم تلقیح باکتریایی در یک سطح آماری قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هر دو رقم هیبرید و محلی، تلقیح باکتری باعث افزایش به ترتیب ۱۶ و ۲۰ درصدی غلظت کلروفیل *b* شد. تیمار رقم محلی و تلقیح باکتری از بالاترین غلظت کلروفیل *b* برخوردار بود که با تیمار محلی و عدم تلقیح در یک گروه قرار گرفت. کمترین غلظت نیز در رقم

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوبیا سبز

Table 5. Mean comparison of interaction effect between cultivar and bactria on physiological traits of green bean

SPAD عدد	کاروتینوئید	<i>a + b</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a</i>	Treatment		تیمار
					باکتری	رقم	
SPAD number	Carotenoid	Chl <i>a+b</i>	Chl <i>b</i>	Chl <i>a</i>	Bactria	Cultivar	
		($\mu\text{g.ml}^{-1}$)					
55.73 ^b	1.57 ^a	7.39 ^a	7.69 ^a	1.18 ^a	Inoculation	تلقیح	محلي
53.56 ^b	1.26 ^b	7.04 ^a	6.18 ^b	1.27 ^a	Non-inoculation	عدم تلقیح	Landrace
61.95 ^a	1.13 ^c	4.47 ^b	6.58 ^b	1.19 ^a	Inoculation	تلقیح	هیبرید
53.52 ^b	0.82 ^d	5.76 ^c	5.55 ^c	0.89 ^b	Non-inoculation	عدم تلقیح	Hybrid

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد با یکدیگر ندارند

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability levels

کمترین میزان غلظت کاروتونوئید به سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و رقم هیبرید تعلق داشت. در این آزمایش غلظت رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتونوئید در هر دو رقم با افزایش سطوح شوری کاهش یافت که با نتایج محققان دیگر در دو گیاه سویا (Weisany *et al.*, 2011) و گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری (Talebzade *et al.*, 2009) همسویی داشت. کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش شوری بهدلیل فعالیت بیشتر آنزیم کلروفیلاز گزارش شده است. همچنین بعضی از مواد تنظیم کننده رشد نظیر آبسزیک اسید و اتیلن موجب تحریک فعالیت این آنزیم می‌شوند (Sultan, 2005). تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن موجود در شرایط تنش نیز بر ساختار کلروپلاست آسیب می‌رساند و باعث کاهش غلظت کلروفیل می‌شود (Desingh *et al.*, 2007) با این وجود در گیاهان عالی مقدار کلروفیل در گیاهان حساس به شوری مانند گوجه‌فرنگی، نخود، سیب‌زمینی و لوبیا کاهش می‌یابد اما در گیاهان متحمل به شوری مانند خردل مقدار کلروفیل افزایش می‌یابد (Kafi *et al.*, 2009). با این حال گزارش‌های معده‌دی از تأثیر افزایشی شوری روی محتوای کلروفیل‌ها در دست است. هر چند، این افزایش ممکن است نتیجه افزایش تعداد کلروپلاست در برگ‌های تحت تنش باشد. علاوه‌بر آن میزان سنتز کلروفیل گیاهان مختلف به هنگام شوری نتیجه عملکرد مسیرهای مختلف سنتزی است که با آنزیم‌های متفاوت قابل پیگیری بوده و این آنزیم‌ها پاسخ‌های متفاوت به شوری نشان می‌دهند (Jamil *et al.*, 2007).

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و شوری بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوبیا سبز با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۷)، با افزایش سطوح شوری غلظت کلروفیل *a* در هر دو رقم محلی و هیبرید روند نزولی داشت بهطوری که بیشترین غلظت کلروفیل *a* در هر دو رقم در سطح شاهد (صفر دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده شد. حداقل غلظت کلروفیل *a* در رقم محلی و شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد که با تیمار رقم محلی و شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر و همچنین تیمار رقم هیبرید و شوری پنج و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر در یک سطح آماری قرار گرفت. بیشترین غلظت کلروفیل *b* در رقم محلی و شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر وجود داشت. کمترین غلظت کلروفیل *b* در رقم هیبرید و شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد که با تیمار رقم محلی در همین سطح شوری در یک گروه مشترک قرار گرفت. غلظت کلروفیل *a+b* نیز در تمامی سطوح شوری اختلاف معنی‌داری را نشان داد، بهطوری که بیشترین میزان ۲/۵ در تیمار شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر و رقم محلی مشاهده شد که نسبت به رقم هیبرید در همین سطح شوری حدود ۲۶ درصد بیشتر بود. کمترین میزان این صفت در هر دو رقم هیبرید و محلی در تیمار شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. غلظت کاروتونوئید با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها در سطوح مختلف شوری نسبت به سطح عدم تنش (صفر دسی‌زیمنس بر متر) کاهش یافت، بهطوری که بیشترین غلظت آن بهمیزان ۱/۶۷ میکروگرم در میلی‌لیتر در سطح صفر دسی‌زیمنس بر متر و رقم محلی مشاهده شده است. همچنین

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و شوری بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوبیا سبز

Carotenoid	Treatment			Treatment
	<i>a+b</i>	Chl <i>a+b</i>	Chl <i>b</i>	
		($\mu\text{g.ml}^{-1}$)		
1.67 ^a	8.55 ^b	7.50 ^b	2.51 ^a	0
1.40 ^b	10.18 ^a	9.10 ^a	1.38 ^b	2.5
1.27 ^{bc}	5.48 ^c	5.89 ^{de}	0.56 ^{cd}	5
1.12 ^c	4.63 ^f	5.25 ^{ef}	0.45 ^d	Landrace
1.36 ^b	6.58 ^d	6.22 ^d	2.46 ^a	0
1.05 ^e	7.44 ^c	7.10 ^{bc}	0.68 ^e	2.5
0.93 ^f	6.47 ^d	6.33 ^{cd}	0.51 ^{cd}	5
0.74 ^g	3.98 ^f	4.59 ^f	0.50 ^{cd}	Hybrid
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد با یکدیگر تبارند				

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability levels

متر (شاهد) و تلقیح باکتری تعلق داشت. اما پس از اعمال تنفس شوری افت چشمگیری در میزان آن مشاهده شد. به طوری که شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و تیمار عدم تلقیح کمترین میزان این پارامتر ۱۹/۲۷ میکروگرم در میلی‌لیتر را به خود اختصاص داد. با توجه به نتایج می‌توان گفت که حداکثر میزان رنگدانه‌های مورد مطالعه در تیمار تلقیح باکتری وجود داشت. در این زمینه در خصوص تغییرات کلروفیل در گیاه کاهو تحت تنفس شوری و اثر تلقیح باکتری‌های محرك رشد برسی‌هایی انجام شد و نشان داده شد که تلقیح باکتری‌های محرك رشد باعث افزایش غلظت کلروفیل نسبت به تیمار شاهد شد (Han, 2005 & Lee, 2005). این امر می‌تواند مربوط به تولید و ترشح ترکیبات تحریک‌کننده رشد گیاه و یا برخی هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد باشد که توسط ریزموجودات در خاک تولید شده و رشد و نمو و فعالیت‌های بیوشیمیابی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلف نظری تولید انواع آنتی‌بیوتیک و همچنین از طریق تولید فیتوهورمون‌ها مثل اکسین‌ها، جیبریلین‌ها باعث ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاهان می‌شوند (Barea *et al.*, 2005).

مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری و شوری بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوپیا سبز نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌های اثر متقابل باکتری و شوری (جدول ۸) نشان داد که با افزایش سطوح شوری از غلظت کلروفیل *a* در هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح باکتری کاسته شد. بیشترین غلظت کلروفیل *a* در تیمار تلقیح باکتری و در سطح شاهد (صفر دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده شد که نسبت به تیمار عدم تلقیح در همین سطح حدود ۴۷ درصد افزایش داشت. در مقابل تیمار شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و عدم تلقیح باکتری از حداقل غلظت کلروفیل *a* برخوردار بود که با تیمار شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر در یک گروه قرار گرفت. سطح شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر دارای بیشترین غلظت کلروفیل *b* در هر دو تیمار تلقیح و عدم تلقیح باکتری بود که با افزایش شوری از میزان کلروفیل *b* نیز کاسته شد. به طوری که شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و تیمار عدم تلقیح از کمترین میزان کلروفیل *b* بود. روند تغییرات کلروفیل *a+b* تا حدودی همانند کلروفیل *b* بود. بیشترین میزان محتوای کلروفیل کل برگ (عدد SPAD) با ۱۰ درصد افزایش نسبت به تیمار عدم تلقیح، به تیمار شوری صفر دسی‌زیمنس بر

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل تلقیح باکتری و سطوح شوری در پارامترهای فیزیولوژیک گیاه لوپیا سبز

Table 7. Mean comparison of interaction effect between cultivar and salinity on physiological traits of green bean

SPAD number	SPAD	عدد <i>a+b</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a</i>	Treatment		تیمار
					شوری Salinity (dS.m ⁻¹)	باکتری Bactria	
105.23 ^a	72.36 ^c	7.05 ^c	6.60 ^{cd}	2.96 ^a	0	تلقیح	Inoculation
20.33 ^d	20.58 ^d	9.11 ^a	8.55 ^a	0.94 ^c			
96.56 ^b	89.55 ^b	5.96 ^d	5.86 ^{de}	0.59 ^d			
23.63 ^d	19.27 ^f	4.19 ^e	5.45 ^e	0.59 ^d			
85.22 ^b	85.22 ^b	8.08 ^b	7.12 ^{bc}	2.01 ^b	2.5	عدم تلقیح	Non-inoculation
60.00 ^d	60.00 ^d	8.52 ^{ab}	7.66 ^b	1.11 ^c	5		
44.42 ^e	44.42 ^e	6.00 ^d	6.35 ^{cd}	0.46 ^{de}	7.5		
39.39 ^e	39.39 ^e	4.42 ^e	4.39 ^f	0.36 ^e			

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با یکدیگر ندارند

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability levels

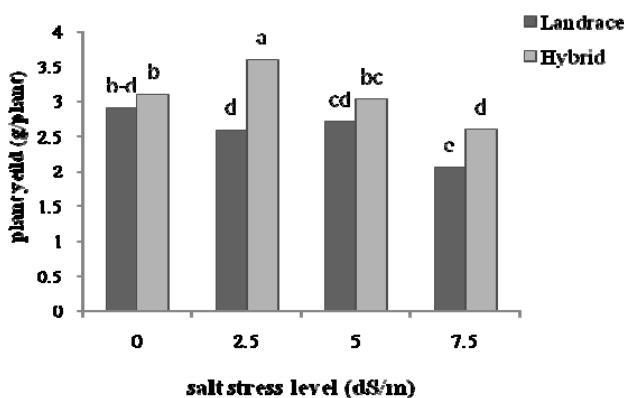
بر متر مشاهده شد. نتایج نشان داد که بین رقم هیبرید و محلی از لحاظ صفت عملکرد غلاف و مقاومت به شوری اختلاف چشمگیری وجود دارد. رقم هیبرید در واقع اشاره به بذر F1 دارد که از راه مستقیم از تلاقی دو والدی که از نظر ژنتیکی متفاوت هستند، تولید می‌گردد. در این ارقام، صفات کیفی و مفید هر دو والد با هم ترکیب شده و منتج به پدیده‌ای به نام نیروی هیبریدی^۱ (برتری هیبرید نسبت به والدین) می‌گردد،

1- Hybrid vigor or Heterosis

ج: عملکرد غلاف در اثر متقابل رقم و شوری مشاهده شد که رقم هیبرید در تمامی سطوح شوری نسبت به رقم محلی از لحاظ صفت عملکرد غلاف در سطح بالاتری قرار گرفت (شکل ۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بالاترین میزان عملکرد مربوط به رقم هیبرید و شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که ۲۸ درصد بیشتر از رقم محلی در همین سطح بود. همچنین کمترین میزان عملکرد در تیمار رقم محلی و شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس

افزایش شوری گزارش شد. به نظر می‌رسد عدم آamas مناسب سلول‌ها و تخصیص بیشتر مواد سنتز شده جهت مقابله با تنفس، کوتاه شدن دوره‌ی رشد گیاه و نیز مکانیسم‌های فرار از تنفس همگی می‌توانند از توسعه عادی سلول‌ها ممانعت و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد گیاه را در پی داشته باشند (Hamayun *et al.*, 2010).

لذا این عامل باعث عملکرد بیشتر ارقام هیبرید در مقایسه با ارقام معمولی می‌شود (Arzani, 2009). با این وجود افزایش سطوح شوری باعث کاهش عملکرد در هر دو رقم شد. در پژوهش‌های دیگر، کاهش رشد و عملکرد گیاه سویا (Hamayun *et al.*, 2010) و کاهش تعداد غلاف و در نهایت عملکرد کل گیاه لوبيا سبز (Abdel *et al.*, 2010) و در اثر

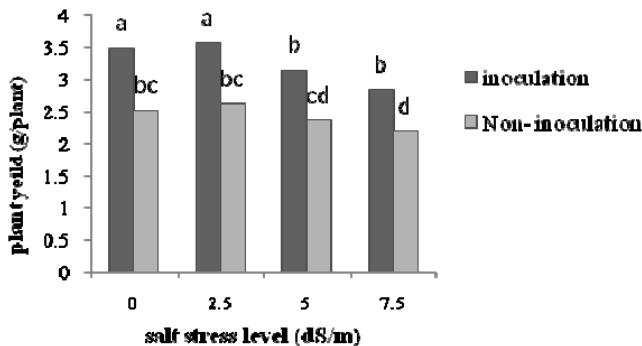


شکل ۲- اثر سطوح مختلف شوری بر عملکرد گیاه لوبيا سبز در دو رقم هیبرید و محلی

Fig. 2. Effect of different salt stress levels on green bean yield of landrace and hybrid cultivars of green bean

عملکرد گیاهان تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم عنوان کردند (Koochaki *et al.*, 2008). علاوه بر این نیز ثابت شده است که اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها ریزش برگ، گل و میوه را به تأخیر می‌اندازد (Fathi *et al.*, 2000). در این راستا افزایش عملکرد کلزا تحت شرایط شوری در اثر تلقیح با باکتری‌های افزاینده رشد همراه با افزایش در میزان روغن، فعالیت سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب عناصر غذایی نیز گزارش شد (Jalili *et al.*, 2009). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که آزوسپیریلوم با تعدیل شوری در بالابردن عملکرد دانه ارقام گندم نقش مثبت و معنی‌داری ایفا می‌کند. این محققان عنوان کردند آزوسپیریلوم با استفاده از محافظت اسمزی مناسب نظیر پرولین، گلیسین و بتائین در شرایط شور با تجمع مواد تنظیم کننده اسماطیک احتمالاً در ایجاد شرایط مناسب در تحمل به شوری کمک می‌کنند (Mostajeran *et al.*, 2006).

نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری و شوری (شکل ۳) در مورد صفت عملکرد غلاف نشان داد که تیمار تلقیح باکتری در تمامی سطوح شوری نسبت به تیمار عدم تلقیح در سطح بالاتری قرار داشت. تیمار تلقیح در دو تیمار شاهد و ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر از بالاترین میزان عملکرد غلاف برخوردار بود که با تیمار تلقیح و شاهد در یک گروه مشترک قرار گرفت. نتایج نشان داد که تلقیح باکتری باعث افزایش ۳۴ درصدی عملکرد غلاف نسبت به تیمار عدم تلقیح در سطح ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری شد. کمترین میزان عملکرد غلاف نیز مربوط به تیمار عدم تلقیح و شوری پنج و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. در پژوهش حاضر، تنها صفت سطح برگ ($r=0.59$; $P\leq 0.01$) و کلوفیل ($a=0.73$; $P\leq 0.01$) با عملکرد غلاف همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌داری داشتند (داده‌ها نشان داده نشد). بنا به گزارش محققان تولید فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین توسعه باکتری آزوسپیریلوم را یکی از دلایل افزایش



شکل ۳- اثر سطوح مختلف شوری بر عملکرد غلاف گیاه لوبیا سبز در تیمار تلقیح و عدم تلقیح باکتری

Fig. 3. Effect of different salt stress levels on pod yield in inoculation and non-inoculation bacteria treatments

در صفت عملکرد غلاف، که مهم‌ترین پارامتر این گیاه، می‌باشد کارامدتر از رقم محلی در شرایط تنفس عمل می‌کند. در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر نقش مفید باکتری‌های افزاینده رشد در فرآیندهای بیوشیمیابی، مورفولوژیکی و همچنین بهبود رشدی گیاه لوبیا سبز به‌ویژه در شرایط تنفس شوری ملایم است.

در نهایت می‌توان کرد در سطوح شوری پایین، باکتری می‌تواند اثرات نامطلوب تنفس اسمتیک بر گیاه لوبیا سبز را کاهش داده و تا حد زیادی اثرات منفی تنفس شوری را تعدیل نماید. هر چند قرار گرفتن گیاه لوبیا سبز تنفس شوری کاهش رشد و عملکرد آن را در پی داشت اما تلقیح باکتریابی در سطوح مختلف تنفس اثر مثبت و معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی و عملکرد غلاف گذاشت. همچنین رقم هیبرید

منابع

1. Abdel-Mawgoud, A.M., El-Nemr, M.A., Tantawy, A.S., and Habib, A. 2010. Alleviation of salinity effects on green bean plants using some environmental friendly materials. Journal of Applied Sciences Research 6 (7): 871-878.
2. Arzani, A. 2009. Crops Improvements. Esfahan Technology University Publications. p 606. (In Persian).
3. Banaei, M., Momeni, A., Baybordi, M., Malakuti, M. 2004. Iran Soils; New Developments in the Diagnosis, Management and Exploitation, Soil and Water Research Institute. p 500. (In Persian).
4. Bareja, J.M., Pozo, M.J., and Azcon-Aguilar, R. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of experimental Botany 56: 1761-1775.
5. Calvo-Polanco, M., Sánchez-Romera, B., and Aroca, R. 2014. Mild salt stress conditions induce Different responses in root hydraulic conductivity of *Phaseolus vulgaris* L. Over-Time 9 (3): 320-326.
6. Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., Kozo, A., and Lumyong, S. 2008. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. KMITL Science and Technology Journal 8:18-23.
7. Cheng, Z., Park, E., and Glick, B.R. 2007. 1- Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. Canadian Journal of Microbiology 53: 912-918.
8. Desingh, R., and Kanagaraj, G. 2007. Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. General and Applied Plant Physiology 33 (3-4): 221-234.
9. Emadi, A., Jones, R. J., and Brodsky, R. A. 2009. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. Nature Reviews Clinical Oncology 6 (11): 638-647.
10. Fathi, G., Esmaeilpour, B. 2000. Plant Growth Substances, Mashhad University Press. p 288. (In Persian).
11. Gama, P.B.S., Inanaga, S., Tanaka, K., and Nakazaa, R. 2007. Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress, African Journal of Biotechnology 6 (2): 79-88.

12. Garrido, Y., Tudela, J.A., Marín, A., Mestre, T., Martínez, V., and Gil, M.I. 2014. Physiological, phytochemical and structural changes of multi-leaf lettuce caused by salt stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94 (8): 1592-1599.
13. Gillick, B.R., Penrose, D., and Wenbo, M. 2001. Bacteria promotion of plant growth. *Biotechnology Advances* 19: 135- 146.
14. Hamayun, M., Afzal Khan, S., Latif Khan, A., and Shinwari, Z. 2010. Effect of salt stress on growth attributes and endogenous growth hormones of soybean cultivar hwangkeumkong. *Pakistan Journal Botany* 42 (5): 3103- 3112.
15. Han, H.S., Suppanjani, K., and Lee, D. 2004. Effect of coinoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Agronomy Journal* 24: 169 - 176.
16. Ipek, M., Pirlak, L., Esitken, A., Figen Donmez, M., Turan, M., and Sahin, F. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria (Pgpr) increase yield, growth and nutrition of strawberry under high-calcareous soil conditions. *Journal of Plant Nutrition* 37 (7): 990-1001.
17. Jalili, F., Khavazi, K., Pazira, E., Nejati, A., Rahmani, H.A., Sadaghiani, H.R., and Miransari, M. 2009. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. *Journal of Plant Physiology* 166 (6): 667-674.
18. Jamil, M., Rehman, S.H. and Rha, E.S. 2007. Salinity effect on plant growth, PSII photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). *Pakistan Journal of Botany* 39: 753-760.
19. Kafi, M., and Mahdavi Damghani, A. 2000. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants .Ferdowsi University of Mashhad Publications. p 467. (In Persian).
20. Khoramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mohalatiand, M., and Gorbani, R. 2008. Effects of biological fertilizers application on growth indices of *Nigella sativa* L. *Iranian Agronomy Research* 6: 285-294. [In Persian with English summary].
21. Kiyani, K. 2009. Benefits and Harms of Medicinal Herbs, Fruits and Vegetables, Dairy, Pulses, Nuts, etc. p 520. (In Persian).
22. Koochaki, A., Tabrizi, L., and Ghorbani, R. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Iranian Journal of Field Crops Research*. 6 (1): 127-137. (In Persian with English Summary).
23. Kungu, J.B., Lasco, R.D., Cruz, L.U.D., Cruz, R.E.D., and Husain, T. 2008. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coping ability and drought resistance of *Senna spectabilis*. *Pakistan Journal of Botany* 40: 2217-2224.
24. Lovelli, S., Scope, A., Perniol, M., Tommaso, T., and Sofo, A. 2012. Abscisic acid root and leaf concentration in relation to biomass partitioning in salinized tomato plants. *Journal of Plant Physiology* 169: 226-233.
25. Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M., and Freitas, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances* 29 (2): 248-258.
26. Maghsoudi, A., and Maghsoudi, K. 2008. Salt stress effects on respiration and growth of germinated seeds of different wheat cultivars. *World Journal of Agricultural Science* 4: 351-358.
27. Marius, S., Octavita, A., Eugen, U., Vlad, A. 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genetics and Molecular Biology* 12 (2): 11-17.
28. McClean, P., Kami, J., and Gepts, P. 2004. Genomics and genetic diversity in common bean. *Legume Crop Genomics* 60-82.
29. Mostajeran, A., Amoagaei, R., and Emtiazi, G. 2006. Effects of Azospirillum and irrigation water salinity on grain yield and protein content of wheat cultivars. *Scientific Journal of Esfahan University* 18 (3): 248-260. [In Persian with English summary].
30. Norani Azad, H., and Haji Bagheri, M. 2008. Effect of salt stress on some physiological parameters of dill (*Anethum graveolens*). *Modern Science of Agriculture Journal*. 12: 93-100. (In Persian with English Summary).

31. Penrose, D.M., and Glick, B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum* 118 (1): 10-15.
32. Porra, R.J., Thompson, W.A., and Kriedemann, P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectrometry. *Photosynthesis Research* 975: 384-394.
33. Shiyab, S.M., Shatnawi, M.A., Shibli, R.A., Al Smeirat, N.G., Ayad, J., and Akash, M.W. 2013. Growth, nutrient acquisition and physiological responses of hydroponic grown tomato to sodium chloride salt induced stress. *Journal of Plant Nutrition* 36 (4): 665-676.
34. Sultan, A. 2005. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany* 42 (3): 211-220
35. Taiz, L., and Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Publication. p660.
36. Talebzadeh, Z., Mehdizadeh, H., and Abrishamchi, P. 2009. Determination of two Tomato (*Lycopersicon esculentum*) tolerance threshold to salinity. *Journal Plant Ecophysiology* 1: 64-77.
37. Weisany, W., Sohrabi, Y., and Heidari, Gh. 2011. Physiological responses of soybean to zinc application under salinity stress. *Australian Journal of Crop Science* 5 (11): 1441- 1447.
38. Zahir, A.Z., Arshad, M., and Franken Berger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria. *Advances in Agronomy* 81: 97-168.

Evaluation of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on some growth parameters and photosynthetically pigments of two green bean (*Phaseolus vulgaris L.*) plant cultivars under salt stress conditions

Firoozi¹, H., Pirdashti^{2*}, H. & Hosseini³, S.J.

1- Horticultural Department, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

2-Associate Professor, Agronomy Department, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan; Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

3-Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received: 5 June 2013

Accepted: 14 January 2015

Abstract

Nowadays, protection of environment and safe agricultural production are an important aims of the sustainable agriculture. Also, in attention to abundance of saline soil and water resources in the country, the present research was designed to evaluate PGPR inoculation effect on some morphological and physiological traits of two green bean plant cultivars under salinity stress conditions. A greenhouse experiment was designed on factorial arrangement based on completely randomized design with four replications at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 2012. The treatments consist of salinity (sodium chloride) in four levels (0, 2.5, 5 and 7.5 dS.m⁻¹), two cultivars (landrace and Hybrid) and pretreatment of PGPR at two levels (non-inoculation and inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum*). The results showed that interaction effect of cultivar and bacteria were significant on all physiological parameters, fresh and dry weights and leaf area. Bacteria inoculation increased leaf area with 11 % ratio than non-inoculation treatments. Also, interaction effect of cultivar and salinity were significant in all physiological parameters, shoot fresh weight, leaf fresh and dry weight, leaf area, petiol dry weight and yield except SPAD value. The maximum amount of pod yield with 3.6 gr per plant was observed in hybrid cultivar and 2.5 dS.m⁻¹ salt stress treatment. Interaction effect of bacteria and salinity were significant in all biochemical traits, leaf fresh weight, leaf area, petiol fresh and dry weights and yield. Bacteria inoculation influenced pod yield in all levels. The results exhibited 2.5 dS.m⁻¹ salt stress level and bacteria inoculation treatment with 34% obtained higher amount of pod yield ratio than non-inoculation treatment. In conclusion, results of this research represent the benefit role of PGPR on amelioration of biochemical, morphological parameters and plant growth improvement under mid salt stress conditions

Key words: *Azospirillum*, *Azotobacter*, Hybrid, Chlorophyll, Inoculation

* Corresponding Author: h.pirdashti@sanru.ac.ir, Tel: 0151-3822747

ارزیابی اثر سیلیسیم بر صفات فیزیولوژی، کیفی و کمی لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در تنفس شوری

سارا پرنده^{۱*}، غلامرضا زمانی^۲، محمدحسن سیاری^۲ و محمد قادر قادری^۲

۱- دانشجوی دکتری زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

۲- اعضای هیأت علمی گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۷

چکیده

شوری یکی از تنفس‌های محیطی و مانع اساسی برای تولید محصولات کشاورزی است. تنفس شوری، بر ویژگی‌های فیزیولوژی، مورفو‌لولوژی، آناتومی، ترکیب‌های شیمیایی و میزان آب بافت گیاهان مؤثر می‌باشد. جبوهات دومین منبع غذایی بشر پس از غلات به‌شمار می‌روند. در میان جبوهات، لوبیا از اهمیت خاصی برخوردار است. به‌منظور بررسی اثر سیلیسیم بر صفات فیزیولوژی، کیفی و کمی لوبیا، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بیرجند در سال ۱۳۹۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۵ سطح شوری (۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر) و ۴ سطح سیلیکات‌سیدیم (صفرا، ۰.۰۵ و ۰.۱ میلی‌مولار) بودند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که با افزایش شوری مقدار آب برگ، وزن خشک کل، درصد پروتئین، عملکرد پروتئین و عملکرد دانه به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. اما در مقابل، شوری موجب افزایش معنی‌داری در غلظت پروولین و غلظت قندهای محلول گیاه شد. سیلیکات‌سیدیم نیز تأثیر معنی‌داری بر مقدار آب برگ و غلظت پروولین برگ داشت. با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان گفت که مصرف سیلیکات‌سیدیم از طریق بهبود خصوصیات رویشی موجب کاهش اثرات زیانبار شوری بر ویژگی‌های فیزیولوژی، کیفیت و کمیت دانه لوبیا شده است.

واژه‌های کلیدی: لوبیا، سیلیکات‌سیدیم، پروولین، قندهای محلول، درصد پروتئین

تحمل می‌کند (Lauchli, 1984). با توجه به اینکه بخش

وسيعی از زمین‌های کشور به‌دلیل شرایط خاص آب و هوایی، طبیعت مواد مادری و کیفیت نامناسب آب آبیاری شور بوده یا روند آن‌ها به سمت شور شدن هر چه بیشتر می‌باشد، طبیعی است که کشت گیاهان در این شرایط با مشکل مواجه بوده و لازم است تا حد امکان تدبیر لازم به‌منظور جلوگیری از کاهش عملکرد گیاهان به‌عمل آید. در این راستا علاوه بر رعایت موارد و مبانی مدیریتی، تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان ضرورت دارد، بدین معنا که با عرضه کافی و منظم عناصر غذایی می‌توان مشکلات ناشی از شوری را به حداقل رساند (Hu & Schmidhalter, 1997).

یکی از اثرات اولیه شوری کاهش مقدار آب بافت‌های گیاهی می‌باشد. کاهش مقدار نسبی آب می‌تواند در نتیجه کاهش دسترسی به آب در اثر افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از وجود نمک در ناحیه توسعه ریشه باشد. به عبارت دیگر، شوری میزان انرژی لازم برای حفظ حالت طبیعی سلول را افزایش داده و در نتیجه انرژی کمتری برای نیازهای رشدی باقی می‌ماند. پژوهشگران گزارش کردند که اثر کلرید سیدیم بر مقدار رطوبت نسبی گیاه توت‌فرنگی معنی‌دار بود، به‌طوری که با افزایش

مقدمه

شوری خاک یکی از عمده‌ترین مشکلات کشاورزی در نواحی خشک و نیمه خشک دنیا است (Saadatnoori & Nelly, 2000). برخی از مواد معدنی غیر ضروری ممکن است عوارض شوری را خنثی کنند. به عنوان مثال سیلیسیم عنصری غیر ضروری برای رشد گیاه است، نتایج مطالعات نشان داده کاربرد سیلیسیم به‌طور معنی‌داری رشد گیاه را در شرایط شوری افزایش می‌دهد (Tahir et al., 2006). شوری موجب افزایش یون سدیم در بخش هوایی گیاهان و به‌خصوص در ریشه می‌گردد، اما تغذیه با سیلیسیم در گیاه موجب کاهش غلظت این یون در بافت‌ها می‌شود. مارشнер گزارش کرده است که چون بخش زیادی از سدیم به‌صورت غیر فعال توسط گیاهان جذب می‌شود و فرآیند جذب آن متأثر از جریان تعرق می‌باشد، در نتیجه کاهش جذب سدیم می‌تواند ناشی از تأثیر سیلیسیم روی میزان تعرق باشد (Marschner, 1995).

در بین جبوهات آبی، لوبیا از نظر سطح زیر کشت مقام اول را در ایران دارد (FAO, 2006). لوبیا به شدت به شوری حساس است و شوری خاک کمتر از ۲ دسی‌زیمنس بر متر را

*- نویسنده مسئول: Sara.parande@yahoo.com .۰۹۱۵۳۰۵۲۵۵۹

انتقال (صادرات) مواد و افزایش سنتز ساکارز بهدلیل فعالسازی آنزیم ساکارز فسفات سنتز افزایش می‌یابد (Oliviera-Neto *et al.*, 2009).

پژوهشگران کاهش عملکرد گیاه لوبيا را تحت تنش شوری مشاهده نمودند (Katerji *et al.*, 1992). پژوهشگران همچنین با بررسی اثر سیلیسیم بر کاهش بیماری‌های خیار گلخانه‌ای نشان دادند که افزایش مقدار سیلیسیم از طریق کاهش بیماری‌ها موجب افزایش عملکرد خیار گردید (Menzies & Belanger, 1996).

با توجه به اینکه بیشتر اراضی کشور ما شور هستند و لوبيا گیاهی حساس به شوری است، از اینرو برای کشت این گیاه بعد از گندم در خیلی از استان‌ها بهدلیل شوری زمین با مشکل مواجه هستیم، در این راستا یکی از عناصری که می‌تواند با بهبود وضعیت آب گیاه، اثرات شوری را تعدیل نماید سیلیسیم است، این آزمایش بهمنظور بررسی اثر سیلیکات‌های سدیم بر صفات فیزیولوژی، کیفی و کمی لوبيا در تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۰ در گلخانه پژوهشی دانشگاه بیرجند با ۱۲/۱۲ ساعت روز/شب و دمای ۱۵/۲۵ درجه سانتی‌گراد بهصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل شوری خاک با پنج سطح ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر و سیلیکات‌های سدیم با چهار سطح صفر، ۱، ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار بودند. خاک مورد استفاده در این آزمایش پس از انتقال به آزمایشگاه خاکشناسی دانشکده کشاورزی، مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

غلاظت کلرید سدیم مقدار رطوبت نسبی کاهش یافت در حالی که افزودن سیلیسیم به محلول غذایی، با بهبود وضعیت آبی گیاه، مقدار رطوبت نسبی برگ را افزایش می‌دهد (Fatemy *et al.*, 2009).

آزمایشی که بر روی گیاه ذرت انجام شد نشان داد که تحت شرایط تنش، وزن خشک و میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد و کاربرد سیلیسیم در این شرایط منجر به افزایش پارامترهای فیزیولوژیکی شده، رشد گیاه را بهبود و مقدار تولید را افزایش می‌دهد (Kaya *et al.*, 2006). همچنین سیلیسیم رشد را در گیاه لوبيا تحت تنش شوری افزایش داده و فتوسنتز را بهبود بخشیده است (Zuccarini, 2008).

وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2003) کاهش معنی‌داری را در وزن تر و خشک گیاه لوبيا چشم بلبلی با افزایش سطح شوری بهویژه در سطح شوری بالا گزارش نمودند. مشاهده شده است که تحت تنش شوری، سیلیسیم موجب افزایش رشد رویشی، افزایش تولید ماده خشک و افزایش وزن خشک و تر خیار به‌طور معنی‌داری شده است (Zhu *et al.*, 2004).

پرولین یک تنظیم‌کننده اسمزی است که در پاسخ به تنش شوری افزایش می‌یابد. یکی از راهکارهای مهم در گیاهان عالی تحت شرایط شوری تجمع ترکیباتی نظیر پرولین است. تجمع پرولین یک پاسخ دفاعی اولیه برای حفظ فشار اسمزی در سلول است و گزارشات متعددی مبنی بر نقش پرولین در تنظیم اسمزی، محافظت ساختمان سلول و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن بیان شده است (Ashraf & Foolad, 2007). همچنان، پژوهشگران افزایش قندهای محلول را در گیاهان مواجه با تنش گزارش نموده و اظهار نمودند که این ترکیبات ناشی از افزایش تجزیه کربوهیدرات‌های نامحلول، سنتز مواد اسمزی از مسیرهای غیر فتوسنتزی، توقف رشد، کاهش سرعت

جدول ۱- خصوصیات خاک مورد آزمایش
Table 1. Characteristics of soil in experiment

سدیم Na (meq)	کلر Cl (meq)	کلسیم Ca (meq)	منیزیم Mg (meq)	هدایت الکتریکی EC (dS.m ⁻¹)	اسیدیته PH	ظرفیت زراعی FC (%)	بافت خاک Soil texture	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)
2.6	6.6	4.8	4.4	0.47	7.7	15	لوامی Loamy	14	46	40

اعمال در گلدان‌ها از الک ۶ میلی‌متری عبور داده شد و مقدار ۴ کیلوگرم خاک خشک برای هر گلدان و مقادیر سیلیسیم و

واحدهای آزمایش، شامل گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۱/۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر بودند. خاک مورد نظر برای

دسى زیمنس بر متر و تیمار سیلیسیم صفر، یک و دو میلی مولار بررسی شدند.

میزان پرولین و قندهای محلول به ترتیب در طول موج ۵۱۵ و ۶۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شدند (Bates *et al.*, 1973). درصد پروتئین دانه نیز با استفاده از رابطه (۲) به دست آمد (Bradford, 1979).

$$\text{معادله (۲)} \quad \frac{\text{وزن نمونه}}{\text{وزن نمونه}} = \frac{6.25 \times 0.14}{\text{درصد پروتئین}} \quad \text{حجم اسید مصربی}$$

در انتهای مرحله رسیدگی، گیاهان هر گلدان برداشت شدند و به منظور تعیین عملکرد دانه، کل دانه برداشت شده از هر گلدان، وزن شد و برای راحتی مقایسه نتایج این پژوهش با نتایج سایر محققان، واحد گرم در گلدان از روش زیر به گرم در متترمربع تبدیل شد: ابتدا مساحت گلدان را بر حسب متترمربع از طریق فرمول مربوطه ($\text{شعاع}^2 \times 14/3$) به دست آورده، سپس از طریق رابطه زیر تعداد بوته در متر مربع محاسبه شده است:

$$\text{مساحت گلدان} / ۳ \times (\text{بوته} \times ۱ \text{ مترمربع}) = \text{Tعداد بوته در متترمربع}$$

محاسبه عملکرد گیاه در متترمربع نیز از رابطه زیر محاسبه شد:

$$(\text{Tعداد بوته در گلدان} / ۳) \times (\text{عملکرد ۳ بوته در گلدان} \times \text{Tعداد بوته در متترمربع})$$

در پایان پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه و تحلیل آن‌ها به کمک نرم افزار آماری SAS 9.1، انجام شد و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. شکل‌ها نیز توزیع نرم افزار Excel 2007 رسم گردید.

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به مقدار نسبی آب نشان داد که اثر اصلی فاکتورهای شوری و سیلیکات‌سیدیم تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر مقدار نسبی آب برگ گیاه لوبیا داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های مقدار نسبی آب در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر با $54/7$ درصد کمترین مقدار را داشت که نسبت به پایین‌ترین سطح شوری 20% کاهش نشان داد (شکل ۱). نتایج به دست آمده در مورد اثر سطوح مختلف سیلیکات‌سیدیم بر مقدار نسبی آب برگ نشان داد که بیشترین مقدار آب برگ در سطح ۱ میلی‌مولار سیلیکات‌سیدیم به مقدار $65/1$ درصد به دست آمد که نسبت به پایین‌ترین سطح سیلیکات‌سیدیم 18% افزایش نشان داد (شکل ۲)، در مورد اثر متقابل شوری و سیلیکات‌سیدیم بر مقدار نسبی آب برگ کمترین مقدار در سطوح مختلف شوری در حالت عدم مصرف سیلیکات‌سیدیم

شوری در سطوح مختلف محاسبه و به صورت محلول همراه رطوبت ظرفیت زراعی به دست آمده، با خاک مورد نظر در داخل تشت به طور کامل مخلوط شد و این کار برای هر تیمار به طور جداگانه صورت گرفت و سپس وزن نهایی گلدان‌ها به دست آمد. فاکتور شوری با استفاده از کلرید سدیم در آب مقطر تهیه شد و با انجام کالیبراسیون شوری محلول نظر در خاک ایجاد شد. فاکتور سیلیسیم نیز به صورت حل کردن سیلیکات‌سیدیم در آب، به خاک هر گلدان اضافه شد. در این آزمایش از لوبيای رقم "اختر" استفاده شد. به منظور ضدغوفونی کردن بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت‌سیدیم یک درصد قرار گرفته، آنگاه به ترتیب توسط آب معمولی و آب مقطر شستشو داده شدند. کشت لوبيا در عمق $1/5$ سانتی‌متری از سطح خاک در تاریخ ۲۵ مهر ماه صورت گرفت. در ابتدا 10 بذر در هر گلدان کاشته شد، بعد از اطمینان کامل از سبز شدن و استقرار گیاه، تنک بوته‌ها انجام و به تعداد 3 بوته در گلدان کاهش یافت. آبیاری گلدان‌ها بر اساس ظرفیت زراعی و هر روز با آب مقطر انجام شد. برای کنترل شوری در خاک، تعداد 6 گلدان به عنوان شاهد با شرایط یکسان و مشابه گلدان‌های آزمایشی، اما بدون گیاه در نظر گرفته شد، و EC خاک گلدان‌های شاهد با استفاده از EC متر به فواصل زمانی منظم اندازه‌گیری شد.

در مرحله پر شدن دانه‌ی اولین غلاف، دو گیاه از هر گلدان را انتخاب کرده و یک برگ از برگ‌های میانی هر گیاه برای محاسبه مقدار نسبی آب برگ جدا گردید، سپس به وسیله ترازوی با دقیقه 0.001 توزین شدند. پس از آن نمونه‌ها به مدت 12 ساعت در ظرف‌های حاوی آب مقطر قرار گرفتند و پس از رسیدن به حالت آamas دوباره توزین شدند. سپس نمونه‌ها به مدت 24 ساعت، در دمای 75 درجه سانتی‌گراد در آون خشک شده و مجدداً توزین شدند. مقدار نسبی آب گیاه از رابطه (1) محاسبه گردید:

$$\text{معادله (۱)} \quad \text{RWC} = (\text{Fw} - \text{Dw} / \text{Tw} - \text{Dw}) \times 100$$

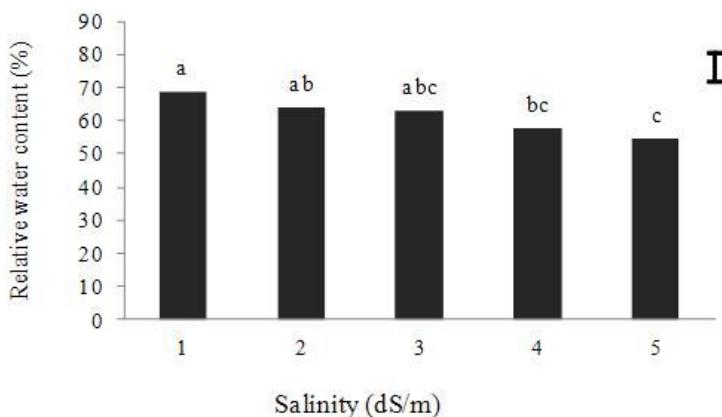
Fw : وزن تر برگ، Dw : وزن خشک برگ و Tw : وزن

آamas برگ

برداشت گیاهان در 28 دی ماه انجام شد. برای تعیین وزن خشک اندام هوایی گیاه در پایان فصل رشد، اندام هوایی لوبيا از سطح خاک جدا و به مدت 48 ساعت در دمای 75 درجه سانتی‌گراد در آون، قرار داده شدند، سپس توزین آن‌ها به وسیله ترازوی آزمایشگاهی با دقیقه 0.001 گرم صورت گرفت. در این پژوهش میزان پرولین، قندهای محلول، محظوظ پروتئین و عملکرد پروتئین دانه در تیمارهای شوری 1 ، 3 و 5

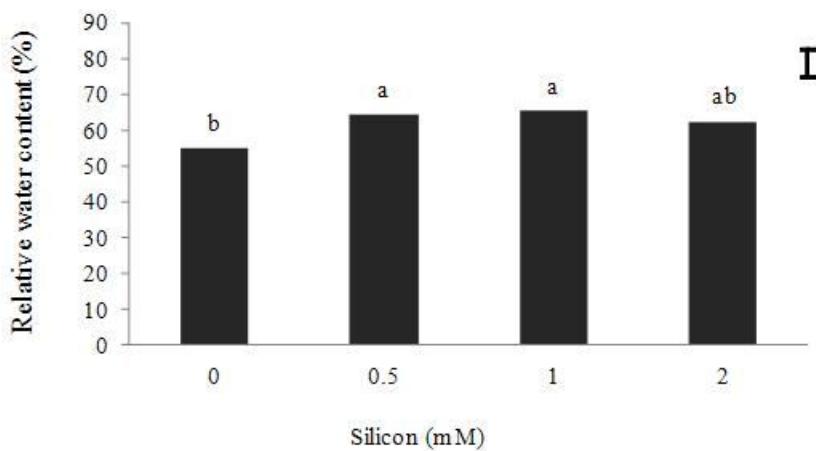
می‌دهد. بنابراین برخی گیاهان با جذب یون، پتانسیل آب خود را در سطح پایین‌تری حفظ می‌کنند که این عمل به سازش، افزایش رشد و افزایش مقدار نسبی آب گیاهان کمک می‌کند. مقدار نسبی آب برگ معیار مناسبی برای بررسی وضعیت آبی گیاه است. افزودن سیلیسیم به محلول غذایی در شرایط شوری، با بهبود وضعیت آبی گیاه، مقدار نسبی آب برگ را افزایش می‌دهد (Kaya *et al.*, 2006).

به دست آمد. در شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر بیشترین مقدار نسبی آب برگ در حالت مصرف ۲ میلی‌مولار سیلیکات‌سدیم به مقدار ۶۴٪ به دست آمد که نسبت به شاهد ۶۳٪ افزایش داشت هرچند که اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۴). تنفس شوری از طریق تأثیر بر چندین مکانیزم مهم گیاه از قبیل تنظیم فشار اسمزی، سنتز پروتئین، فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها و کاهش آب قابل دسترس گیاه، رشد گیاه را کاهش



شکل ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر مقدار نسبی آب برگ گیاه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیان‌گر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 1 .Effect of salinity on leaf relative water content of bean

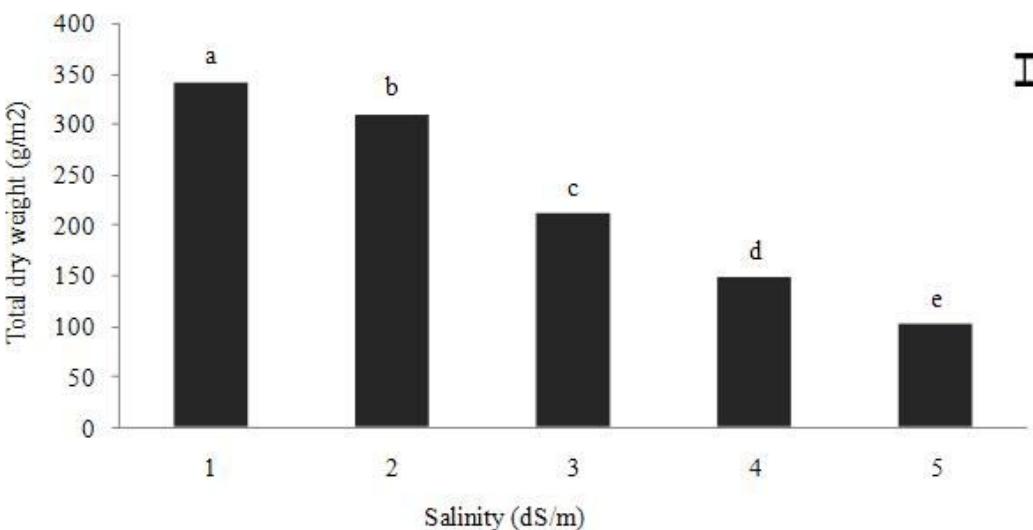


شکل ۲- اثر سطوح مختلف سیلیکات‌سدیم بر محتوی نسبی آب برگ گیاه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیان‌گر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 2. Effect of different levels of silicon on the leaf water content of bean

Hoffman, 1977). حسین و همکاران، کاهش معنی‌داری را در تعداد برگ‌های سبز، وزن تر و خشک گیاه لوبيا چشم بلبلی با افزایش سطح شوری بهویژه در سطح شوری بالا گزارش نمودند (Hosseini et al., 2008). در این پژوهش هرچند که تأثیر سیلیکات سدیم بر ماده خشک کل گیاه لوبيا معنی‌دار نبود، اما بیشترین ماده خشک، در سطح مصرف ۱ میلی‌مولار سیلیکات سدیم به مقدار ۲۳۰/۹ گرم در متر مربع به دست آمد که نسبت به حالت عدم مصرف ۸٪ افزایش نشان داد (جدول ۴).

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به وزن خشک کل گیاه لوبيا نشان داد که فاکتور شوری تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر وزن خشک کل گیاه لوبيا داشت (جدول ۲). بیشترین مقدار وزن خشک کل در شوری ۱ دسی‌زمینس بر متر به مقدار ۳۴۱/۰۶ گرم در متر مربع به دست آمد که نسبت به بالاترین سطح شوری موجب افزایش ۲/۳۳ برابر این صفت شد (شکل ۳). تنفس شوری تنها بر یک مرحله رشدی گیاه تأثیر نامطلوب نمی‌گذارد بلکه اثر شوری با توجه به شدت تنفس، نوع تنفس، میزان مقاومت گیاه، مراحل مختلف رشدی و نوع بافت و اندام گیاهی (سیر تکاملی) متفاوت می‌باشد (Mass and

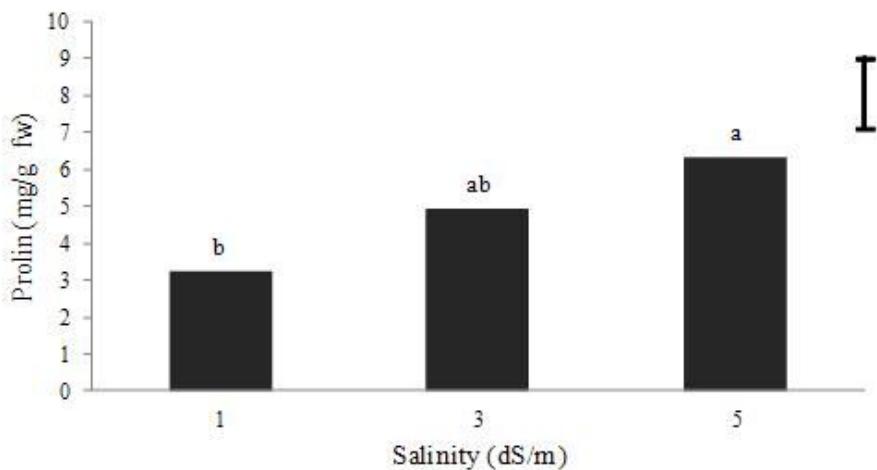


شکل ۳- اثر سطوح مختلف شوری بر وزن خشک کل گیاه لوبيا (خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 3. Effect of different levels of salinity on the total dry weight of bean

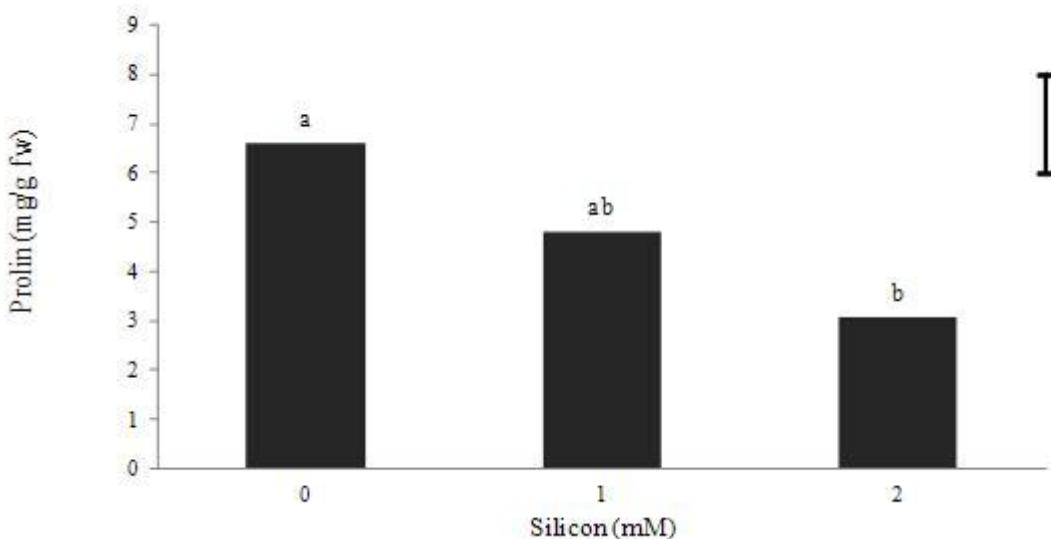
ریشه را برای گیاه فراهم آورد. صفرنژاد و همکاران گزارش کردند که تنفس شوری موجب افزایش پرولین در ژنوتیپ‌های یونجه می‌شود (Safarnejad et al, 1996). نتایج آزمایش فاطمی و همکاران نشان داد که کاربرد سیلیسیم در وضعیت شوری، تجمع پرولین را به طور کاملاً معنی‌داری کاهش داد (Fatemy et al, 2009). کایا و همکاران نیز گزارش کردند که تیمار سیلیسیم با کاهش جذب نمک و تحریک رشد رویشی، تجمع پرولین را در گیاه ذرت کاهش داده است (Kaya et al, 2006). پژوهشگران در پژوهشی بر روی سورگوم بیان کردند که در بالاترین سطح شوری اعمال شده (۲۳ دسی‌زمینس بر متر)، به کارگیری سیلیسیم نسبت به حالت عدم مصرف، محتوى پرولین را به مقدار ۴/۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک کاهش داده است (Kafi et al., 2011).

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به غلظت پرولین نشان داد که اثر اصلی فاکتورهای شوری و سیلیکات سدیم تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر غلظت پرولین گیاه لوبيا داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های غلظت پرولین در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری ۵ دسی‌زمینس بر متر با ۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین مقدار را داشت که نسبت به پایین‌ترین سطح شوری ۹۵٪ افزایش نشان داد (شکل ۴). نتایج به دست آمده در مورد اثر سطوح مختلف سیلیکات سدیم بر غلظت پرولین نشان داد که کمترین غلظت پرولین در سطح ۳۰۵ میلی‌مولار سیلیکات سدیم به مقدار ۳۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آمد که نسبت به پایین‌ترین سطح سیلیکات سدیم ۵۴٪ کاهش نشان داد (شکل ۵). تجمع ترکیباتی همانند پرولین و اسیدهای آمینه در بافت سبز گیاهان در تنفس شوری می‌تواند تا حدی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط



شکل ۴- اثر سطوح مختلف شوری بر غلظت پرولین گیاه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 4. Effect of different levels of salinity on the prolin concentration of bean



شکل ۵- اثر سطوح مختلف سیلیکات‌سدیم بر غلظت پرولین گیاه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

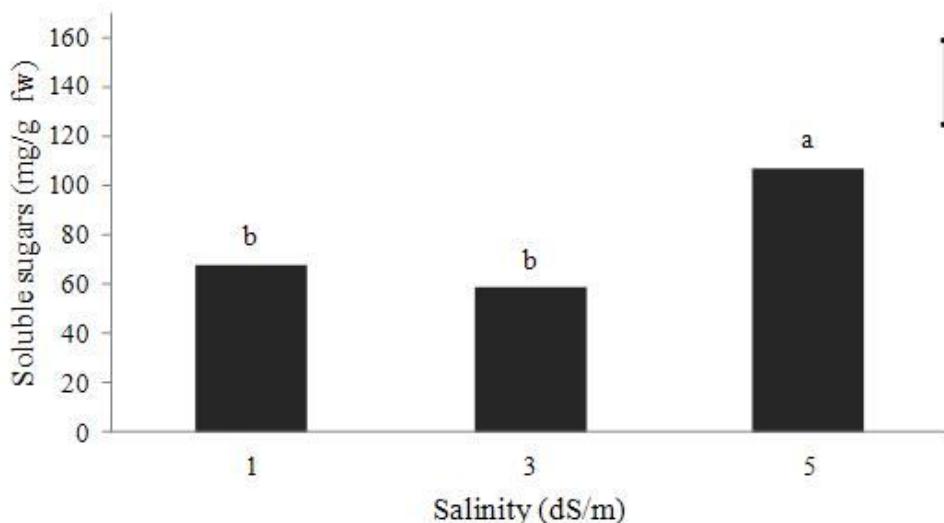
Fig. 5. Effect of levels of silicon on the prolin concentration of bean

نسبت به پایین‌ترین سطح شوری ۰.۵۸٪ افزایش نشان داد (شکل ۶). علت تجمع قندهای محلول در طی تنفس شوری این است که قندهای نامحلول مثل نشاسته تجزیه شده و قندهای محلول را ایجاد می‌کنند تا پتانسیل اسمزی را حفظ کرده و خطر پسابیدگی را کاهش دهد. افزون بر این کاهش مصرف قند به دلیل کاهش فتوسنتر در طی تنفس شوری نیز می‌تواند عامل

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به غلظت قندهای محلول نشان داد که اثر اصلی فاکتور شوری تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر غلظت قندهای محلول گیاه لوبیا داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های غلظت قندهای محلول در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر با ۱۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین مقدار را داشت که

محتوی قندهای محلول نسبت به حالت عدم مصرف و مصرف ۲ میلی‌مولار سیلیکات سدیم (حد بالای مصرف) افزایش داشت که این روند در مورد شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر نیز صادق بود (جدول ۵). پژوهشگران نیز در پژوهشی بر روی سورگوم بیان کردند که در بالاترین سطح به کارگیری سیلیسیم (۱/۹۲ گرم بر کیلوگرم خاک) نسبت به تیمار عدم مصرف، میزان قندهای محلول تنها ۴/۹ درصد افزایش یافته و این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است (Kafi *et al.*, 2011).

دیگری برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول باشد (Parvaiz & Satyawati, 2008). در پژوهشی که توسط سیلوا و همکاران بر روی لوبیا چشم بلبلی انجام گرفت، دریافتند که شوری باعث افزایش میزان قندهای محلول می‌شود (Silva *et al.*, 2003). اثر اصلی سیلیکات سدیم و همچنین برهم‌کنش فاکتورهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشتند. در مورد اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی، در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر با مصرف ۱ میلی‌مولار سیلیکات سدیم،

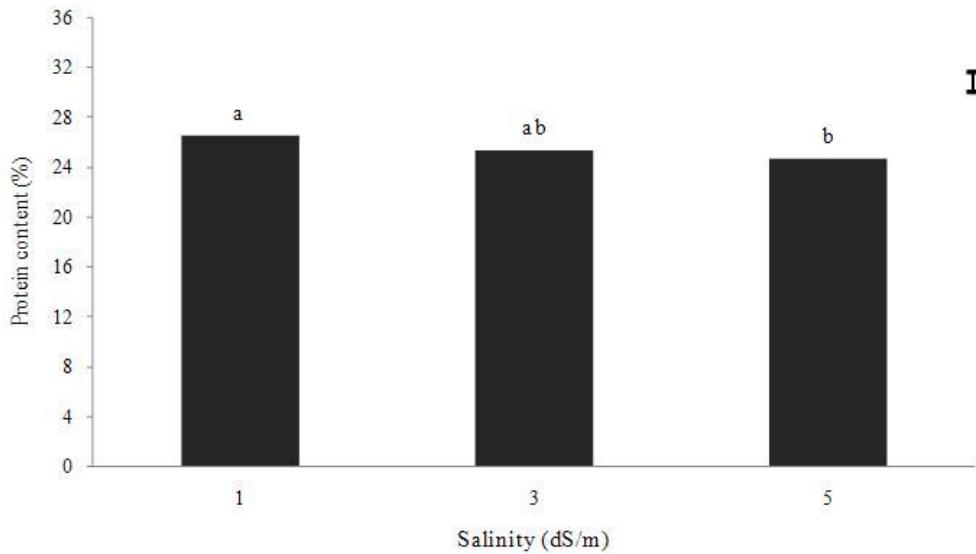


شکل ۶- اثر سطوح مختلف شوری بر غلظت قندهای محلول گیاه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 6. Effect of different levels of salinity on the soluble sugars concentration of bean

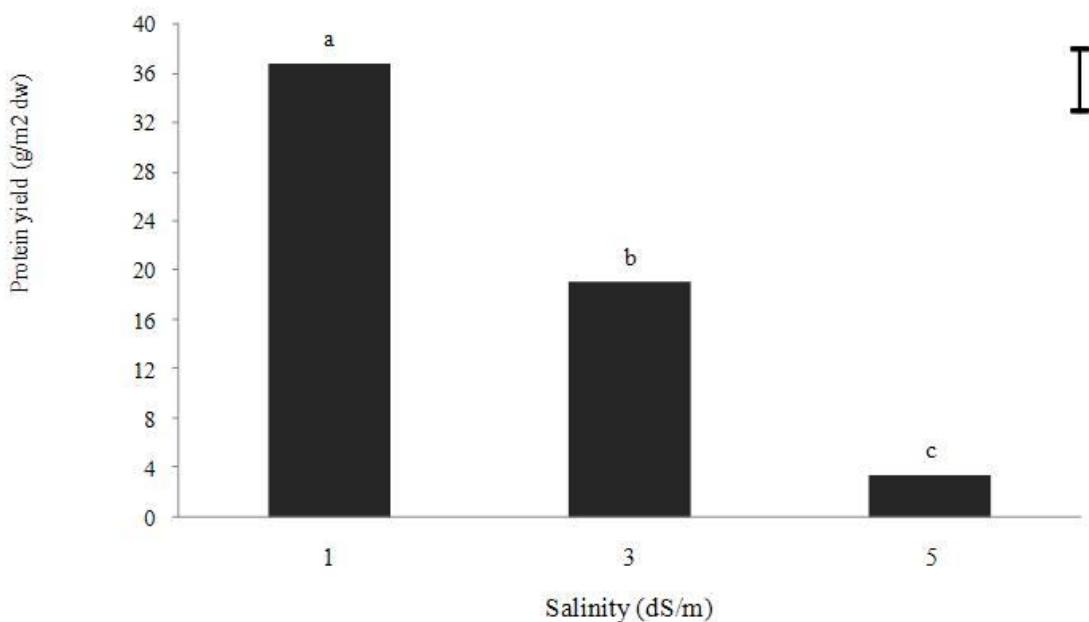
بیوسنتز پروتئین در اثر تنفس شوری انجام می‌پذیرد (Bruria & Arie, 1998). تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به عملکرد پروتئین نشان داد که اثر اصلی فاکتور شوری تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر مقدار پروتئین دانه لوبیا داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های پروتئین دانه لوبیا در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر با ۲۶/۶ درصد بیشترین مقدار را داشت که نسبت به بالاترین سطح شوری ۷٪ افزایش نشان داد (شکل ۷). کاهش سنتز پروتئین توسط اندام‌های مختلف گیاهان تحت تنفس شوری در لوبیا سبز (Pesarakli, 1999) گزارش شده است. کاهش پروتئین همچنین در سیب‌زمینی که به تنفس نمک حساس است تحت شوری گزارش شده است و بیان شد که کاهش درصد پروتئین احتمالاً منشاً تغذیه‌ای نداشته و به علت جلوگیری از میلی‌مولار سیلیکات سدیم بود (جدول ۵).

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به مقدار پروتئین دانه نشان داد که اثر اصلی فاکتور شوری تأثیر معنی‌داری (۰/۰۱) بر مقدار پروتئین دانه لوبیا داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های پروتئین دانه در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر با ۲۶/۶ درصد بیشترین مقدار را داشت که نسبت به بالاترین سطح شوری ۷٪ افزایش نشان داد (شکل ۷). کاهش سنتز پروتئین توسط اندام‌های مختلف گیاهان تحت تنفس شوری در لوبیا سبز (Pesarakli, 1999) گزارش شده است. کاهش پروتئین همچنین در سیب‌زمینی که به تنفس نمک حساس است تحت شوری گزارش شده است و بیان شد که کاهش درصد پروتئین احتمالاً منشاً تغذیه‌ای نداشته و به علت جلوگیری از



شکل ۷- اثر سطوح مختلف شوری بر درصد پروتئین دانه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 7. Effect of different levels of salinity on the protein content of grain bean



شکل ۸- اثر سطوح مختلف شوری بر عملکرد پروتئین دانه لوبیا (خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)

Fig. 8. Effect of levels of salinity on the protein yield of grain bean

در نهایت کاهش رشد زایشی و عملکرد دانه، میزان عملکرد پروتئین کاهش پیدا کرد.

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به عملکرد دانه نشان داد که اثر اصلی فاکتور شوری تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر

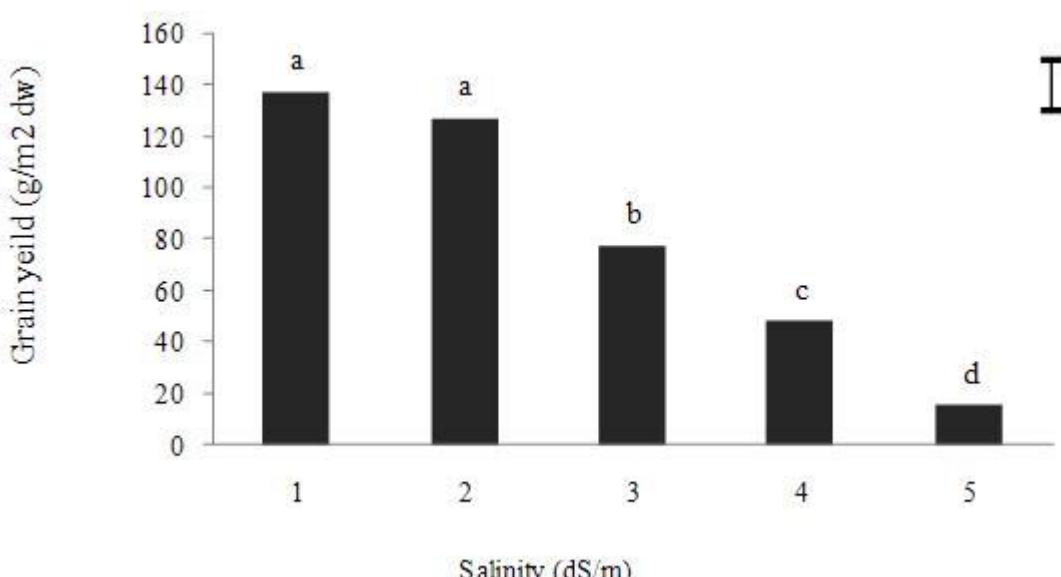
پسرکلی (Pesararakli, 1999) گزارش کرد که تنفس شوری باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار پروتئین گیاهان می‌شود. احتمالاً با افزایش شوری، بهدلیل کاهش رشد رویشی و

به مقدار ۱۴۴/۲ گرم در متر مربع بددست آمد که نسبت به بالاترین سطح شوری و عدم مصرف سیلیسیم (۱۰/۷ گرم در متر مربع) افزایش چشمگیری نشان داد. در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر مشخص گردید که سیلیسیم در شوری بالا می‌تواند موجب کاهش اثر شوری بر این صفت شود (جدول ۴). در این راستا مس و هوفمن، گزارش کردند ۵۰ درصد کاهش عملکرد لوبیا در شوری ۳/۶ دسی‌زیمنس بر متر روی می‌دهد (Mass and Hoffman, 1997). سیلیسیم با اثر بر روش روشی گیاه و افزایش تولیدات ماده خشک و حاصلخیزی خاک، سبب کاهش تعرق شده در نتیجه موجب بالا رفتن عملکرد گیاه می‌شود (Agarie *et al.*, 1996).

به طور کلی اگر چه اثرات مفید سیلیکات‌های سدیم در شرایط مطلوب محسوس است، ولی زمانی که گیاه در معرض شرایط تنش قرار می‌گیرد، اثرات سودمند سیلیکات‌های سدیم چشمگیرتر است. از این دیدگاه مصرف سیلیکات‌های سدیم بهویژه زمانی که گیاه در معرض انواع تنش شوری قرار می‌گیرد، شایسته توجه بیشتری است و مصرف آن با توجه به نتایج این پژوهش توصیه می‌شود.

عملکرد دانه لوبیا داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های عملکرد دانه در سطوح مختلف شوری نشان داد که شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر با ۱۳۷/۶ گرم (در متر مربع) بیشترین مقدار را داشت که نسبت به بالاترین سطح شوری ۸/۷ برابر افزایش نشان داد (شکل ۹). چنین به نظر می‌رسد که افزایش شوری، رشد گیاه و محتوی مواد غذایی را در گیاه کاهش می‌دهد. بنابراین با کاهش رشد رویشی ناشی از کاهش پتانسیل اسمزی، رشد زایشی و در نهایت عملکرد دانه زیر تأثیر شوری قرار می‌گیرند. شرایط شور منجر به کاهش جذب آب، کاهش تعرق و بسته شدن روزنه‌ها می‌شود که این امر منجر به کاهش رشد می‌شود (Ben-Asher *et al.*, 2006). بنابراین به نظر می‌رسد کاهش رشد رویشی باعث کاهش رشد زایشی و عملکرد دانه شده است. پژوهشگران گزارش کردند که با توجه به حساسیت گیاه لوبیا به تنش شوری، رشد و عملکرد آن کاهش می‌یابد (Ashraf *et al.*, 1997).

اثرات متقابل شوری و سیلیسیم و اثر اصلی شوری بر این صفت معنی‌دار نبود. بیشترین عملکرد دانه در تیمار ۱ میلی‌مولار سیلیسیم و در سطح شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر



شکل ۹- اثر سطوح مختلف شوری بر عملکرد دانه لوبیا
(خط عمودی در بالای شکل بیانگر مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد)
Fig. 9. Effect of different levels of salinity on the grain yield of bean

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده گیاه لوبیا

Table 2. Analysis of variance of measured traits in bean

منابع تغییرات S.O.V		درجه آزادی Degree of freedom	مقدار نسبی آب برگ Leaf water content	وزن خشک کل Total dry weight	عملکرد دانه Grain yield
سیلیکات‌سدیم	Si	3	312.9**	949.08 ns	493.7 ns
شوری	Nacl	4	365.7**	125570.7**	32083.6**
سیلیکات‌سدیم * شوری	Si * Nacl	12	113.6 ns	115.4 ns	170.2 ns
خطا	Error	40	60.9	687.5	355.02
ضریب تغییرات	CV	-	12.6	11.7	23.1

ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشدند

**, * and ns indicates significant different at 1%, 5% levels of probability and non significant different, respectively

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده گیاه لوبیا

Table 3. Analysis of variance of measured traits in bean

منابع تغییرات S.O.V		درجه آزادی Degree of freedom	قندهای محلول Prolin	پروتئین Soluble sugars	درصد پروتئین Protein percent	عملکرد پروتئین Protein yield
سیلیکات‌سدیم	Si	2	28.4 **	136.9 ns	0.4 ns	14.8 ns
شوری	Nacl	2	21.4 *	6063.2 *	8.6 **	2502.9 **
سیلیکات‌سدیم * شوری	Si * Nacl	4	2.4 ns	858.1 ns	0.5 ns	3.13 ns
خطا	Error	18	3.9	1212.8	1.3	16.9
ضریب تغییرات	CV	-	41.4	44.9	4.6	20.82

ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشدند

**, * and ns indicates significant different at 1%, 5% levels of probability and non significant different, respectively

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سیلیکات‌سدیم بر صفات لوبیا

Table 4. Mean comparison of interactive effects of salinity and sodium silicate of measured traits in bean

عملکرد دانه Grain yield	وزن خشک کل Total dry weight	مقدار نسبی آب برگ Leaf water content	شوری (دسی‌زیمنس بر متر) Silicate-sodium (dS/m)	سیلیکات‌سدیم (میلی مولار) Molar
141.1 ^a	334.9 ^a	63.6 ^a	1	0
134.7 ^a	307.1 ^a	64.1 ^a	2	
70.8 ^a	195.4 ^a	59.7 ^a	3	
42.8 ^a	138.2 ^a	48.5 ^a	4	
10.6 ^a	89.7 ^a	39.6 ^a	5	
136.2 ^a	348.7 ^a	74.7 ^a	1	0.5
130.4 ^a	313 ^a	63.9 ^a	2	
86.2 ^a	213.9 ^a	68.2 ^a	3	
41.2 ^a	151.5 ^a	62.2 ^a	4	
21.1 ^a	107.2 ^a	52.2 ^a	5	
144.2 ^a	339.2 ^a	63.7 ^a	1	1
126.2 ^a	310.2 ^a	69.1 ^a	2	
79.9 ^a	226.9 ^a	65.9 ^a	3	
70.8 ^a	160.5 ^a	64.2 ^a	4	
20.7 ^a	117.4 ^a	62.8 ^a	5	
128.9 ^a	341.2 ^a	73.5 ^a	1	2
118.6 ^a	309.2 ^a	58.8 ^a	2	
74.8 ^a	209.5 ^a	58.5 ^a	3	
39.7 ^a	141.2 ^a	57 ^a	4	
11.9 ^a	94.3 ^a	64.2 ^a	5	

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ ندارند.

Means within each column with at least a same letter are not signification different at $\alpha=0.05$ in method LSD.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سیلیکات‌سدیم بر صفات لوبیا

Table 5. Mean comparison of interactive effects of salinity and sodium silicate of measured traits in bean

عملکرد پروتئین Protein yield	عملکرد پروتئین Protein percent	درصد پروتئین Soluble sugars	قندهای محلول Prolin	پرولین شوری (دسی‌زیمنس بر متر) Silicate-sodium (dS/m)	سیلیکات‌سدیم (میلی مولار) Molar
37.3 ^a	26.5 ^a	71.3 ^a	4.6 ^a	1	0
17.8 ^a	25.3 ^a	75.2 ^a	6.4 ^a	3	
2.7 ^a	25.2 ^a	88.5 ^a	8.7 ^a	5	
38.3 ^a	26.5 ^a	75.7 ^a	2.6 ^a	1	
20.3 ^a	25.4 ^a	46.7 ^a	5.2 ^a	3	
4.8 ^a	23.9 ^a	120.2 ^a	6.5 ^a	5	1
34.5 ^a	26.8 ^a	55 ^a	2.4 ^a	1	
18.9 ^a	25.3 ^a	52.5 ^a	3.1 ^a	3	
2.6 ^a	24.9 ^a	112.2 ^a	3.5 ^a	5	
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ ندارند.					2
Means within each column with at least a same letter are not signification different at $\alpha=0.05$ in method LSD.					

منابع

- Agarie, S., Agata, W., Uchida, H., Kubota, F., and Kaufman, P.B. 1996. Function of silica bodies in epidermal system of rice (*Oryza sativa L.*). Journal of Experimental Botany 47: 655-660.
- Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2007. Role of glycine betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. Journal of Environmental and Experimental Botany 206-216.
- Ashraf, M., Jaiwal, P.K., and Singh, G.A. 1997. Improvement of salt tolerance in some native pulse crops. Strategies for improvement of salt tolerance in higher plants. Oxford and IBH publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, p. 413-434.

4. Bates, I.S., Waldern, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Journal of Plant and Soil* 39: 205-207.
5. Ben-Asher, J. I., Tsuyuki, B., Bravdo, A., and Sagih, M. 2006. Irrigation of grapevines with saline water. I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. *Journal of Agricultural Water Management* 83: 13-21.
6. Bradford, M.M. 1979. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Journal of Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
7. Bruria, H., and Arie, N. 1998. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. *Journal of Plant Science* 137: 43- 51.
8. FAO. 2006. Production Estimates and Crop Assessment Division, FAS, USDA.
9. Fatemy, L.S., Tabatabaei, S.J., Fallahi, F. 2009. The effect of silicon on the growth and yield of strawberry grown under saline conditions. *Journal of Horticultural Sciences* 23: 88-95 (In Persian with English Summary).
10. Hosseini, M.M., Shaaban, M.M., and El-Saady, A.K. 2008. Response of cowpea Grown under salinity stress to PK-flor applications. *Journal of American Plant Physiology* 1-8.
11. Hu, Y., and Schmidhalter, U. 1997. Interactive effects of salinity and macronutrient level on wheat.2. Composition. *Journal of Plant Nutrition* 20: 1169-1182.
12. Irigoyen, J.J., Einerich, D.W., and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal of Physiologia Plantarum* 84 (1): 58-60.
13. Kafi, M., Nabati, J., Masoumi, A., and MehrGerdi, Z.M. 2011. Effect of Salinity and Silicon Application on Oxidative Damage Of Sorghum [Sorghum Bicolor (L.) Moench.]. *Journal of Botany* 43 (5): 2457-2462.
14. Katerji, N., VanHoorn, J.W., Hamdy, A., Bouzid, N., El-Sayed Mahrous, S., and Mastrorilli, M., 1992. Effect of salinity on water stress, growth and yield of broadbeans. *Agricultural Water Management* 21: 107-117.
15. Kaya, C., Tuna, L., and Higgs, D. 2006. Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water-stress condition. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1469- 1480.
16. Lauchli, A. 1984. Salt exclusion: an adaptation of legumes for crops and pasture under saline conditions. Staples, R.C., Tronniessen, G.H, (Eds). *Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement* 171-187.
17. Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press. Limited, London. Second edition. p 861.
18. Mass, E.V., and Hoffman, G.I. 1997. Crop salt tolerance, evaluating existing data. In: International Salinity Conference Pub. Book. pp. 107-120.
19. Mass, E.V., and Hoffman, G.H. 1977. Crop salt tolerance current assessment. *Journal of Irrigation and drainage* 103:115-134.
20. Menzies, J.G., and Belanger, R.R. 1996. Recent advances in cultural management of diseases of greenhouse crops. *Journal of Plant Pathol* 18: 186-193.
21. Oliviera-Neto, C.F., Silva-Lobato, A.K., Goncalves-Vidigal, M.C., Costa, R.C.L., Santos.Filho, B.G., Alves, G.A.R., Silva-Maia, W.J.M., Cruz, F.J.R., Neres, H.K.B., and Santos Lopes, M.J. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Journal of Science and Technology* 7: 588-593.
22. Parvaiz, A., and Satyawati, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Journal of Plant Soil Environ* 54: 89-99.
23. Pesarakli, M. 1999. *Handbook of plant and crop stress*. Marcel Decker Inc, New York. Turk, M. A., A. R. M. Tahawa, and K. D. Lee. 2004.
24. Saadat Noori, S.A., and MC Nelly, T. 2000. Assessment of variability in salt tolerance based on seedling growth in *Triticum durum* Dest. *Journal of Genrtic Resources and Crop Evaluation* 47: 285-291.
25. Safarnejad, A., Colin, H.A., Bruce, K.D., and McNeily, T. 1996. Characterization of alfalfa following in vitro selection for salt tolerance. *Journal of Euphitica* 92: 55-61.
26. Silva, J.V., Lacerd, C.F., Costa, P.H.A., Filho, J.E., Filho, E.G., and Prisco, J.T. 2003. Physiological responses of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented with CaCl₂. *Journal of Plant Physiology* 15: 99-105.
27. Tahir, M.A., Rahmatullah, A., Aziz, T., Ashraf, M., Kanwal, S., and Maqsood, M.A. 2006. Benefical effects of Silicon in wheat under salinity stress. *Journal of Botany* 38: 1715-1722.

28. Wang, W., Vinocur, B., and Altman, A., 2003. Plants responses to drough, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, Heidelberg 218 (1): 1-14.
29. Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q., and Yu, J. 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus L.*). *Journal of Plant Science* 167: 527-533.
30. Zuccarini, P. 2008. Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. *Bio. Plant* 52 (1): 157-160.

Effects of silicon on the physiological, quality and quantity characteristics of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under salinity stress

Parande^{1*}, S., Zamani², Gh. R., Sayyari², M.H. & Ghaderi², M. Gh

1- PhD Student of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Birjand

2- Academies staff, Department of Agronomy, University of Birjand

Received: 22 March 2013

Accepted: 17 January 2015

Abstract

Salinity is the major limiting factor for plant growth and crop productivity. Salt stress is effective on physiological characteristics, morphology, anatomy, chemical composition and water content of plant tissue. Pulses are the second of food source after the cereals for human. Among the Pulses, the bean has special importance. In order to investigate the effect of silicon on the physiological, quality and quantity characteristics of common bean, an experiment was conducted as factorial based on randomize completely design with 3 replications in the research greenhouse of Agriculture faculty of Birjand university in 2011. Treatments were including of 5 levels soil salinity (1, 2, 3, 4, 5 ds.m⁻¹) and 4 levels silicon (0, 0.5, 1, 2 mM). The results of analysis of variance showed that the increasing of salinity caused significant reduce in leaf water content, total dry weight, protein content, protein yield and grain yield. But in contrast, salinity caused a significant increase in proline concentration and the concentration of soluble sugars of the plant. Silicon is also imposed a significant effect on leaf water content and proline concentration in leaves. Finally it could be concluded that using of Si in salinity condition reduced harmful effects of salinity on the physiological, quality and quantity characteristics of the bean plant.

Key words: Common bean, Sodium silicate, Proline, Soluble sugars, Protein percent

* Corresponding Author: Sara.parande@yahoo.com

بررسی اثر مтанول بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود (*Cicer arietinum L.*) تحت تنش خشکی

سعیدرضا حسینزاده^{۱*}، منیره چنیانی^۲ و اعظم سلیمی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

۲- عضو هیئت علمی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۴/۰۴

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی مтанول بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، تثبیت CO_2 ، عملکرد کوانتمومی فتوشمیابی (FV/FM)، محتوای آب نسبی، CO_2 درون سلولی، کارایی مصرف آب و پایداری غشای سلول‌های برگی نخود (رقم کرج) در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شهریور سال ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به‌اجرا درآمد. عامل محلول پاشی مtanول با ۵ سطح: شاهد (بدون محلول پاشی)، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی بود که به هر کدام از سطوح ۲ گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. محلول پاشی ۳ بار طی فصل رشد گیاه و با فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. محلول پاشی گیاه‌چه‌ها تا زمان جاری شدن قطره‌های محلول روی برگ ادامه یافت. عامل خشکی نیز شامل تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) و بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) اعمال شد. نتایج نشان داد بین سطوح مختلف مtanول تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.01$) (FV/FM) از نظر میزان کلروفیل a, b، کارتئوئید، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a/b، تثبیت CO_2 ، عملکرد کوانتمومی فتوشمیابی (FV/FM)، CO_2 درون سلولی، محتوای آب نسبی، ضریب پایداری غشاء و کارایی مصرف آب وجود داشت. محلول پاشی با سطح ۳۰ درصد حجمی، موجب افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل a, b، کلروفیل کل، تثبیت CO_2 ، محتوای آب نسبی و CO_2 درون سلولی نسبت به دیگر سطوح شد. بین سطوح مختلف مtanول تفاوت معنی‌داری در پتانسیل عملکرد کوانتمومی (FV/FM) وجود نداشت اما افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد. اثرات مقابل تنش خشکی و مtanول تأثیر معنی‌داری بر میزان کارتئوئید و محتوای آب نسبی نداشت، اما بر میزان کلروفیل a, b، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a/b تثبیت CO_2 ، عملکرد کوانتمومی فتوشمیابی (FV/FM)، CO_2 درون سلولی و ضریب پایداری غشا معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، محلول پاشی مtanول، نخود (*Cicer arietinum L.*), ویژگی‌های فیزیولوژیک

کربن در گیاه شود موجب بهبود عملکرد در شرایط خشکی می‌شود (Zebic *et al.*, 1999). یکی از راهکارهای افزایش غلظت دی اکسید کربن در گیاهان، استفاده از ترکیباتی نظیر مtanول، اتانول، پروپانول، بوتانول و همچنین استفاده از اسیدهای آمینه گلیسین، گلوتامات و آسپارتات می‌باشد (Nonomura *et al.*, 1997). گیاهان می‌توانند مtanول محلول پاشی شده روی برگ‌ها را به راحتی جذب کرده و آن را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Gout *et al.*, 2000). مtanول در گیاهان عالی به آسانی با اتصال به گروههای متیل می‌تواند تبدیل به مولکول‌هایی مثل سرین، متیونین و فسفاتیدیل کولین شود (Row *et al.*, 1994). کاربرد خارجی مtanول به طور مستقیم با فرآیندهای متابولیکی رشد و نمو گیاه در ارتباط است و همچنین با فرآیندهای مرتبط با مکانیسم‌های دفاعی از قبیل فعل شدن

مقدمه

تنش خشکی یکی از مشکلات عمده تولید گیاهان زراعی در ایران و جهان به شمار می‌رود و تهدید جدی برای تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی در سراسر جهان است (Ober, 2001). در حدود یک سوم از زمین‌های قابل کشت دنیا به‌طور قابل توجهی با کمبود آب مواجه هستند (Clover *et al.*, 1998). با اینکه نخود گیاهی نسبتاً مقاوم به خشکی است اما جهت حصول عملکرد بالا اتخاذ راهکارهایی که بتواند اثر تنش خشکی را کاهش دهد، مورد توجه محققان بسیاری بوده است (Hsiao, 2000). افزایش غلظت دی اکسید کربن می‌تواند اثر ناشی از تنش خشکی را خنثی کند. بنابراین به کار بردن موادی که بتواند سبب افزایش غلظت دی اکسید

*نویسنده مسئول: hossinzadeh_tmu@yahoo.com

کیفیت اسیدهای چرب و پروتئین‌ها می‌تواند رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. خشکی از طریق ایجاد تنفس اکسیداتیو (Heravan) یک پارچگی غشای سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Heravan et al., 1994). کارائی مصرف آب می‌تواند به عنوان شاخص مناسب جهت ارزیابی میزان تحمل گیاهان به تنفس خشکی، مورد استفاده قرار گیرد. در گیاهان متتحمل به تنفس خشکی، عملکرد روزنه‌ای کنترل می‌شود تا عمل تثبیت کربن صورت گیرد. بنابراین کارائی مصرف آب در این گیاهان افزایش می‌باید گیرد. بنابراین کارائی مصرف آب در این گیاهان افزایش می‌باید (Yordanov et al., 2003). با توجه به موارد اشاره شده، این آزمایش با هدف بررسی تأثیر مтанول بر ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود تحت شرایط تنفس خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنفس خشکی و محلول‌پاشی مтанول روی نخود (رقم کرج) آزمایشی در شهریور ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در آزمایش شامل تیمار محلول‌پاشی مтанول در ۵ سطح: شاهد (بدون محلول‌پاشی) و محلول‌پاشی در ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی مтанول که به هر کدام از محلول‌ها دو گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. عامل خشکی نیز شامل بدون تنفس خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و تنفس خشکی (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) اعمال شد. واحدهای آزمایشی در این مطالعه از گلدان‌هایی محتوی ۳ کیلوگرم خاک که دارای ۱۸ سانتیمتر قطر و ۱۵ سانتیمتر ارتفاع بود، تشکیل شد. گلدان‌ها در اتاق رشد با درجه حرارت روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۱۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. محلول‌پاشی ۳ بار طی فصل رشد گیاه و با فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. اولین محلول‌پاشی ۴ هفته پس از کاشت و محلول‌پاشی‌های بعدی به ترتیب در اوایل گله‌هی (۴۰ روز بعد از کاشت) و اوایل غلاف دهی (۵۰ روز بعد از کاشت) انجام شد. محلول‌پاشی تا زمان جاری شدن قطره‌های محلول روی برگ ادامه یافت. اندازه‌گیری صفات، یک روز بعد از محلول‌پاشی انجام گرفت. برای سنجش میزان کلروفیل و کارتنوئید از روش Lichtenthaler (1987) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم برگ با ۴ میلی‌لیتر استن ۸۰٪ در هاون چوبی سائیده شد و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و سپس جذب محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل و کارتنوئید توسط اسپکتروفوتومتر مدل ۲۱۰۰ در طول موج‌های ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. جهت صفر کردن دستگاه از استن ۰٪ استفاده شد. میزان کل کلروفیل،

ژن‌های در گیر در بیوسنتز اسید جاسمونیک نیز مرتبط است (Gout et al., 2000). مهمترین فایده مтанول جلوگیری و کاهش اثر تنفس‌های القا شده به گیاهان زراعی در اثر انجام تنفس نوری در آن‌ها می‌باشد (Nonomura et al., 1992). به منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب وارد به دستگاه فتوسنتزی از تکنیکی به نام سنجش فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. درواقع میزان فلورسانس کلروفیل تابعی از فعالیت فتوسنتزی برگ می‌باشد که می‌تواند در تشخیص مدت تنفس‌های محیطی مورد استفاده قرار گیرد (Lichtenthaler et al., 1992). از فلورسانس کلروفیل در برنامه‌های اصلاحی مربوط به بهبود تحمل به سرما در ذرت و برنج (Wilson et al., 1993) و همچنین مقاومت به گرما در آفتبارگردان (Wilson et al., 1993) و تحمل به تنفس خشکی در سیب زمینی (Ranalli et al., 1997) استفاده شده است. در یک آزمایش، کاربرد مтанول باعث کاهش فعالیت فتوسیستم I و II در ۲۰ ساعت اولیه محلول‌پاشی شده است که این موضوع منجر به جذب کمتر نور و حفظ سیستم فتوسنتزی شده است (Khafagi et al., 1997). کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنفس خشکی و حفظ غلظت کلروفیل تحت این شرایط به ثبات فتوسنتز کمک می‌کند (Castillo et al., 1994). در آزمایش دیگری محلول‌پاشی مтанول باعث افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید در برگ Khafagi et al., 1997) در تحقیقی دیگر افزایش کلروفیل بعد از محلول‌پاشی با متابولیسم در برگ گندم، یولاف و مو مشاهده شد (Ramadant & Omran, 2005).

یکی از مهمترین تغییرات ناشی از تنفس خشکی کاهش محتوای آب نسبی برگ (RWC) می‌باشد. این ویژگی می‌تواند توانمندی گیاه را در تحمل به تنفس خشکی نشان دهد. کاهش محتوای آب نسبی و بسته شدن روزنه‌ها اولین تأثیر تنفس خشکی بوده که از طریق اختلال در ساخت مواد فتوسنتزی موجب کاهش میزان عملکرد می‌شود (Anonymous, 1993). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد محلول‌پاشی مtanول سبب کاهش نیاز آبی گیاهان در شرایط گرم می‌شود. متابولیسم مtanول منجر به افزایش قندسازی در برگ‌ها می‌شود که این موضوع سبب افزایش فشار آماس و افزایش سرعت آسیمیلاسیون و رشد در گیاهان تیمار شده با آن شده است (Safarzade Vishkaei, 2007). افزایش محتوای آب نسبی و تورژسانس در بادام زمینی در واکنش به محلول‌پاشی مtanول نیز گزارش شده است (Safarzade Vishkaei, 2007).

تنفس‌های محیطی با تغییر ساختمان غشاء از نظر کمیت و

با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر محلول پاشی مтанول بر ویژگی‌های فیزیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنفس خشکی تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر میزان کلروفیل a و Fangmeir *et al.* (2001) گزارش کردند با کاهش آب قابل استفاده برای گیاهان و به تبع آن بروز تنش خشکی، میزان کلروفیل a و b در بافت سیز برگ کاهش می‌یابد. نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که مтанول تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a, b و محتوای کلروفیل کل داشت (جدول ۱). نتایج حاصله حاکی از آن است که ۳۰ درصد حجمی مтанول بیشترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a, b و محتوای کلروفیل کل داشت، که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی مтанول اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان متغیرهای ذکر شده متعلق به شاهد بود (جدول ۳).

Nonomura *et al.* (1992) محلول پاشی مтанول سبب افزایش پتانسیل تورگر شده و علت آن دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ می‌باشد که منجر به افزایش میزان آب قابل دسترس برای گیاه می‌شود. از طرفی ثابت شده است که در شرایط تنش خشکی جذب منیزیم و احتمالاً آهن کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش میزان سنتز کلروفیل می‌باشد (Keles & Onsel, 2004). احتمالاً مtanول در افزایش طول، سطح ریشه و در جذب عناصر غذایی به ویژه منیزیم و آهن از خاک مؤثر واقع شده است. Paknejad *et al.* (2007) افزایش بیوماس ریشه در سطح ۳۰ درصد مtanول را گزارش کردند. در مطالعه دیگری که روی نخود صورت گرفت افزایش بیوماس ریشه در سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد مtanول مشاهده شد (Hosseinzadeh *et al.*, 2012). در مطالعاتی که روی گوجه فرنگی و فلفل انجام شد، محلول پاشی مtanول به همراه گلیسین، مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش داد (Rajala *et al.* (1998). مطالعات (Row *et al.*, 1994) نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول پاشی مtanول نشان داد. گزارش‌های Fangmeir *et al.* (2001) این را افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن^۱ (ROS) می‌باشد که موجب پراکسیداسیون و درنتیجه تجزیه این رنگره‌ها می‌شود.

کلروفیل a, b و کارتئوئید از طریق معادله‌های (۱) تا (۴) محاسبه گردید:

$$\text{Chla} = 12/21(\text{A664}) - 2/79(\text{A647}) \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\text{Chlb} = 21/21(\text{A647}) - 5/1(\text{A664}) \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\text{Carotenoide} = (1000 \text{ A470} - 1/8\text{Chla} - 85/02\text{Chlb})/198 \quad \text{معادله (۳)}$$

$$\text{ChlT} = \text{Chla} + \text{Chlb} \quad \text{معادله (۴)}$$

به منظور تعیین محتوای آب نسبی موجود در برگ، مقدار معینی از برگ دوم گیاهان برداشت شده از هر تیمار، به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شدند. سپس برگ‌ها از آب خارج و سطح آن‌ها با دستمال کاغذی خشک شد و مجدداً وزن آن‌ها اندازه‌گیری گردید. در مرحله بعد، برگ‌ها در آون ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن آن‌ها نیز محاسبه شد. محتوای آب نسبی با استفاده از معادله (۵) محاسبه شد:

$$\text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW} / \text{TW} - \text{DW}) \times 100 \quad \text{معادله (۵)}$$

در این معادله، RWC محتوای آب نسبی، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است (Bian & Jiang, 2008).

برای تعیین شاخص پایداری غشاء سلولی، ۰/۱ گرم از برگ دوم گیاهان برداشت شده از هر تیمار، توزین و داخل دو گروه لوله آزمایش، حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شدند. یک گروه از لوله‌ها، به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۴۰ درجه سانتیگراد و گروه دیگر لوله‌ها، به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از کاهش دمای لوله‌ها تا حد دمای محیط، هدایت الکتریکی نمونه‌ها به وسیله دستگاه EC meter (Jenway مدل) اندازه‌گیری و سپس شاخص پایداری غشاء از رابطه زیر مطابق روش Sairam *et al.*, 2001) به دست آمد:

(هدایت الکتریکی آب در دمای 100°C / هدایت

الکتریکی آب در دمای 40°C = شاخص پایداری غشا اندازه‌گیری میزان پتانسیل عملکرد کوانتمومی فتوسیستم II به وسیله دستگاه فلوریمتر (PAM-2000, WALTZ) تعیین شد. اندازه‌گیری میزان تثبیت CO_2 ، تعرق و غلظت CO_2 درون سلولی پس از محلول پاشی سوم به وسیله دستگاه اندازه‌گیری میزان فتوسنتز LC4 ساخت شرکت ADC انجام شد. همه اندازه‌گیری‌ها از برگ‌های میانی صورت گرفت. کارایی مصرف آب، از طریق نسبت میزان تثبیت CO_2 به میزان تعرق محاسبه شد (Ahmed, 2002). داده‌ها پس از جمع‌آوری توسط نرم افزار Mstat-C تجزیه واریانس شدند و میانگین‌ها

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه نخود

Table 1. Analysis of variance of physiologic characteristics of chickpea

کارتنوئید Carotenoids (mg/g LFW)	نسبت کلروفیل Chlrophyll a/b	کلروفیل کل Total chlrophyll (mg/g LFW)	b Chlrophyll b (LFW mg/g)	a Chlrophyll a (LFW mg/g)	کلروفیل Degree of freedom (LFW mg/g)	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییر S.O.V		
				میانگین مربعات					
0.205*	0.519**	7.639**	0.658**	3.993**	4	Methanol	متانول		
0.687*	0.023 ns	4.589 **	0.139 ns	3.249**	1	Stress	تنش		
0.090 ns	0.051*	0.355*	0.015*	0.283*	4	M×S	متانول×تنش		
0.079	0.054	0.091	0.035	0.070	20	Error	خطای آزمایش		
6.46	6.27	2.18	6.32	2.44	-	C.V	ضریب تغییرات (%)		

ns: Non-significant, **and *: significant at P≤0.01 & P≤0.05 ns, **, * به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه نخود

Table 2. Analysis of variance of physiologic characteristics of chickpea

کارایی استفاده از آب Water use efficiency (Kg mm ⁻¹ ha ⁻¹)	درون CO ₂ Intracellular CO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹)	آسیمیلاتیون CO ₂ assimilation (μmol m ⁻² s ⁻¹)	پایداری غشاء Cell membrane stability	محتوای آب Relative water content	عملکرد کواتنوم فتوشیمیابی F _v /F _m	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییر S.O.V		
				میانگین مربعات					
572.40 **	3153.666 **	206.021**	0.029**	226.78**	0.031**	4	Methanol	متانول	
837.62 **	28973.398 **	182.987 **	0.055**	240.83**	0.029 *	1	Stress	تنش	
80.014 **	531.277 **	14.411 **	0.013 *	1.97 ns	0.0296**	4	M×S	متانول×تنش	
6.789	70.709	0.734	0.002	5.567	0.0056	20	Error	خطای آزمایش	
13.56	1.43	5.50	7.88	3.19	0.81	-	C.V	ضریب تغییرات (%)	

ns: Non-significant, **and *: significant at P≤0.01 & P≤0.05 ns, **, * به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

معنی داری نداشت و کمترین میزان آن به سطح شاهد تعلق داشت (جدول ۳). کلروفیل‌ها نسبت به اکسیداسیون و بازدارندگی نوری حساس بوده در حالی که نقش کارتوئیدها به عنوان آنتیاکسیدان و حفاظت‌کننده از کلروفیل‌ها مطرح است (Ramadant & Omran, 2005) (Timan *et al.*, 1980). مقدار کلروفیل‌ها پایدارترند (Timan *et al.*, 1980) و مقدار کلروفیل هیچگاه بالاتر از آن مقداری که توسط کارتوئید محافظت می‌شود افزایش پیدا نخواهد کرد

احتمالاً مтанول از طریق جذب آهن که به عنوان گروه پروسیتیک هموپروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است می‌تواند در نایابی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه نقش داشته باشد. نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که اثر تیمارهای مختلف مtanول بر میزان کارتوئید معنی دار (P≤0.05) می‌باشد. بیشترین میزان کارتوئید در سطح ۳۰ درصد حجمی مtanول بود، که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی مtanول اختلاف

انگور و لوبیا انجام شد، نشان داد محلول پاشی مтанول میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ‌ها را افزایش داد (Ramadant & Omran, 2005)

(Robertson *et al.*, 1996). بنابراین احتمالاً افزایش میزان کارتنوئید در سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد حجمی مтанول با افزایش میزان کلروفیل در این سطوح مرتبط است. مطالعاتی که روی

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک گیاه نخود تحت تأثیر سطوح مختلف متانول

Table3. Comparison of physiologic characteristics of chickpea under different levels of methanol

کارتنوئید Carotenoids (mg/g LFW)	a/b Chlrophyll a/b (mg/g LFW)	نسبت کلروفیل کل Total chlrophyll (mg/g LFW)	b Chlrophyll b (LFW mg/g)	a Chlrophyll a (LFW mg/g)	تیمارها Treatments مانوال
3.680 c	3.723 b	12.48 d	2.643 c	9.84 d	شاهد
4.203 b	3.620 b	13.31 c	2.885 b	10.43 c	% ۲۰ حجمی
4.422 a	3.468 b	14.31 b	3.250 a	11.09 b	% ۲۵ حجمی
4.497 a	3.487 b	15.47 a	3.367 a	12.03 a	% ۳۰ حجمی
4.325 ab	4.190 a	13.53 c	2.672 c	10.92 b	% ۳۵ حجمی

فتوصیتی محافظت نماید. بین سطوح مختلف مтанول نیز در محتوای آب نسبی اختلاف معنی داری ($P \leq 0.01$) مشاهده شد. در این ارتباط سطوح مختلف مтанول همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی تفاوت معنی داری با شاهد داشتند. با این حال بیشترین میزان میزان محتوای آب نسبی متعلق به سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد حجمی مтанول بود که به نسبت شاهد افزایش ۱۵ درصدی داشت (جدول ۴). مтанول پس از محلول پاشی متابولیزه شده و با افزایش میزان دی اکسید کربن درون برگی سبب افزایش میزان آماس و تولید کربوهیدرات در برگ‌ها می‌شود Nonomura *et al.*, 1994). طبق گزارش‌های (Row *et al.*, 1994) محلول پاشی مтанول در گیاهانی که در معرض تنفس خشکی هستند سبب افزایش پتانسیل آب و محتوای آب نسبی می‌شود. این محققان علت افزایش محتوای آب نسبی را در گیاهان تیمار شده با مтанول، دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ گیاهان دانستند.

نتایج نشان داد اثر محلول پاشی مтанول بر ضریب پایداری غشاء سلول‌های برگی معنی دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۲). بیشترین میزان پایداری غشاء مربوط به سطح ۲۵ درصدی مтанول بود که با سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی مтанول اختلاف معنی داری نداشت و کمترین میزان آن نیز مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی مтанول بود (جدول ۴). این کاهش را می‌توان به اثرات سمی مтанول در غلظت‌های بالا نسبت داد. نتایج تجزیه

نتایج نشان داد که سطوح مختلف مтанول، تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) بر نسبت کلروفیل a به b داشت (جدول ۱). بیشترین میزان این نسبت مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی مтанول بود و کمترین آن مربوط به سطح شاهد بود که با سایر سطوح اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۳). افزایش این نسبت را می‌توان با افزایش میزان کلروفیل a در سطوح ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی مтанول (طبق موارد فوق) مرتبط دانست. مтанول تأثیر بسیار معنی داری ($P \leq 0.01$) بر عملکرد کوانتمومی (FV/FM) داشت (جدول ۲). غلظت‌های مختلف مтанول اختلاف معنی داری با هم نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی تفاوت آن‌ها با شاهد معنی دار بود (جدول ۴). شبکه کاهشی عملکرد کوانتموم (FV/FM) شاخص خوبی است جهت ارزیابی ممانعت نوری در گیاهانی که در معرض تنفس‌های محیطی نظری خشکی و گرمای همراه با میزان تشعشع زیاد قرار می‌گیرند (Nordenkampf *et al.*, 1991). افزایش عملکرد کوانتموم (FV/FM) دلیلی است بر اینکه تنفس‌های محیطی بر کارایی فتوسنتر تأثیر دارد (Paknejad *et al.*, 2007). نیز نشان داد گزارش‌های (Nonomura *et al.*, 1992) محلول پاشی مтанول در گیاهان سه کربنی سبب مقاومت به تنفس‌های محیطی می‌شود. پس می‌توان گفت احتمالاً مтанول سبب افزایش حفاظت نوری در گیاه شده و توانسته است با خاصیت ضد تنفسی خود گیاه را از صدمات وارد به دستگاه

CO_2 درون سلولی کاهش پیدا کرد که احتمالاً به دلیل اثر سمی متابول در غلظت‌های بالای مصرف آن بوده است (جدول ۴). (Hemming *et al.*, 1995) نیز بیان کردن متابول تأثیر مثبتی بر آسیمیلاسیون CO_2 دارد. این نتایج با نتایج سایر (Obendrof *et al.*, 1990; Hosseinzadeh *et al.*, 2011) مطابقت دارد.

نتایج نشان داد اثر محلول پاشی متابول بر کارایی مصرف آب معنی دار ($P \leq 0.05$) بود. بیشترین میزان کارایی مصرف آب مربوط به سطح ۳۰ درصد حجمی متابول و کمترین آن به سطح شاهد اختصاص داشت (جدول ۴). علت افزایش کارایی مصرف آب را می‌توان با افزایش میزان آسیمیلاسیون CO_2 از طریق محلول پاشی متابول مرتبط دانست. (Makhdum *et al.*, 2002) بیشترین میزان آسیمیلاسیون CO_2 را در سطح ۲۵ و ۳۰ درصد متابول گزارش کردند.

واریانس مشاهدات نشان داد که اثر تنفس خشکی بر ضریب پایداری غشاء سلول‌های برگ معنی دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۲). کاهش ضریب پایداری غشاء در شرایط تنفس خشکی در زیتون و *Medicago truncatula* گزارش شده است (Bayoumi *et al.*, 2008).

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متابول بر میزان آسیمیلاسیون CO_2 و غلظت CO_2 درون سلولی معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان آسیمیلاسیون CO_2 و غلظت CO_2 درون سلولی در سطح ۳۰ درصد حجمی متابول بود که با سطوح ۲۰ و ۲۵ درصد حجمی متابول اختلاف معنی داری داشت (جدول ۴). سطح شاهد (بدون محلول پاشی) کمترین میزان آسیمیلاسیون CO_2 و غلظت CO_2 درون سلولی را دارا بود. با افزایش مقدار متابول از ۳۰ به ۳۵ درصد حجمی، میزان آسیمیلاسیون CO_2 و غلظت

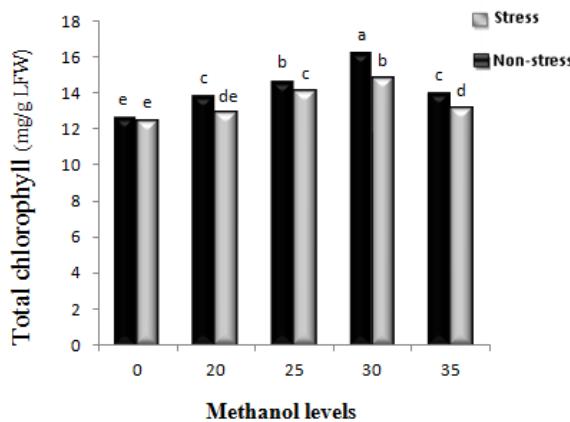
جدول ۴- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک گیاه نخود تحت تأثیر سطوح مختلف متابول

Table 4. Comparison of physiologic characteristics of chickpea under different levels of methanol

Water use efficiency (Kg mm ⁻¹ ha ⁻¹)	کارایی استفاده از آب	CO ₂ درون سلولی	آسیمیلاسیون CO ₂ CO ₂ assimilation (μmol m ⁻² s ⁻¹)	پایداری غشاء (μs) Cell membrane stability	محتوای آب نسبی Relative water content (%)	عملکرد کوانتموم Fv/Fm	تیمارها
							Methanol
10.02 d	560.3 c	9.07 e	0.483 b	0.631 b	0.796 b	0.796 b	شاهد
16.82 c	592.6 b	12.55 d	0.571 a	0.753 a	0.937 a	0.937 a	% ۲۰ حجمی
20.90 c	592.1 b	17.04 b	0.573 a	0.780 a	0.951 a	0.951 a	% ۲۵ حجمی
29.13 a	620.7 a	24.67 a	0.523 ab	0.768 a	0.978 a	0.978 a	% ۳۰ حجمی
24.17 b	573 c	14.59 c	0.405 c	0.768 a	0.942 a	0.942 a	% ۳۵ حجمی

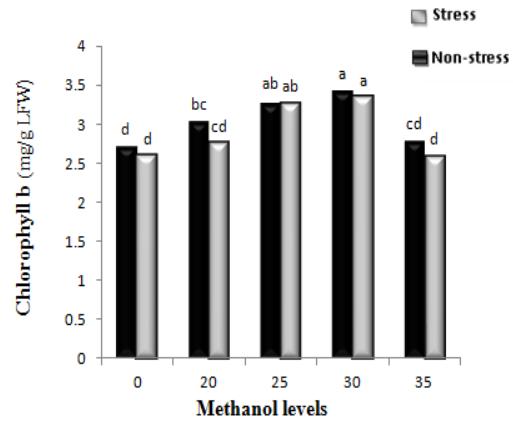
۳). تحت شرایط تنفس، محتوای کلروفیل افزایش یافت. احتمالاً علت این افزایش به کوچک شدن سلول‌های برگ (به علت کاهش سطح برگ) و افزایش تراکم کلروفیل (Paknejad *et al.*, 2007) و همچنین افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) مربوط می‌باشد (Fangmeir *et al.*, 2007).

اثر متقابل متابول و تنفس خشکی بر مؤلفه‌های فیزیولوژیک نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش متابول و تنفس خشکی تأثیر معنی داری بر میزان کارتنوئید و محتوای آب نسبی نداشت، اما بر میزان کلروفیل a, b و محتوای کلروفیل کل، معنی دار ($P \leq 0.05$) بود (جدول ۱). بیشترین میزان کلروفیل a, b و محتوای کلروفیل کل در هر دو تیمار تنفس و بدون تنفس خشکی مربوط به سطح ۳۰ درصد حجمی متابول بود و کمترین آن به تیمار شاهد هم در شرایط تنفس و هم بدون تنفس خشکی اختصاص داشت (شکل‌های ۱ تا



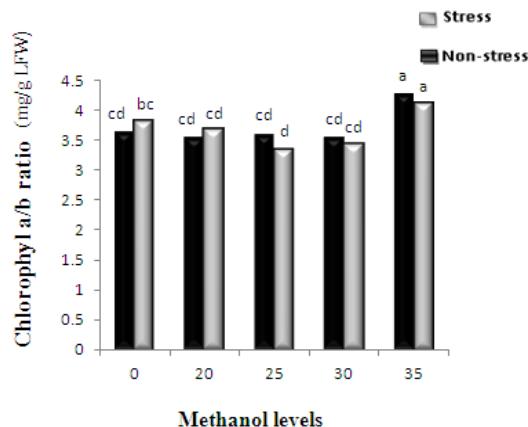
شکل ۳- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل

Fig. 3. The effect of methanol and drought stress Interaction on total chlrophyll content



شکل ۱- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل a

Fig. 1. The effect of methanol and drought stress Interaction on chlrophyll a content

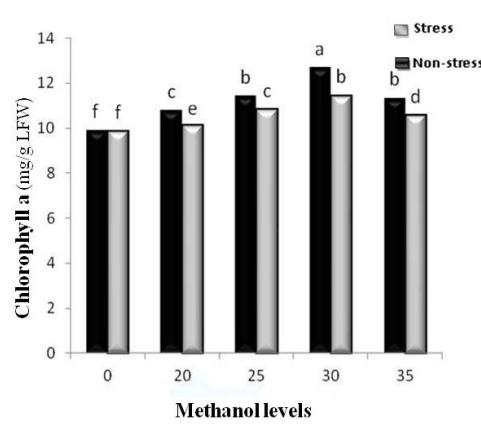


شکل ۴- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر نسبت کلروفیل a به b

Fig. 4. The effect of methanol and drought stress Interaction on chlrophyll a/b

* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

The columns that have letters in common are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to Duncan test.



شکل ۲- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل b

Fig. 2. The effect of methanol and drought stress Interaction on chlrophyll b content

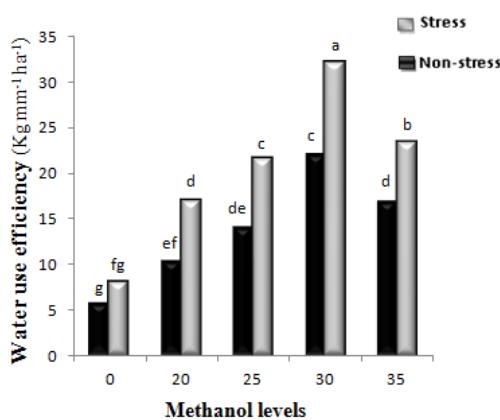
* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

The columns that have letters in common are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to Duncan test.

نابودی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) در گیاه نقش داشته باشد. (Ramadant & omran 2005) گزارش کردند که در برگ گندم، یولاف و مو مقدار کلروفیل بعد از محلول پاشی با متانول در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌داری یافته است.

اثر متقابل تنش خشکی و متانول بر نسبت کلروفیل a به b معنی دار ($P \leq 0.05$) بود. بیشترین میزان این نسبت از سطح ۳۵ درصد حجمی مтанول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش به دست آمد و کمترین میزان آن در سطح ۲۵ درصد حجمی مтанول در تیمار تنش خشکی مشاهده شد اگرچه

رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و درنتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شوند (Fangmeir *et al.*, 2007). از طرفی ثابت شده است که در شرایط تنش خشکی کاهش جذب منیزیم و احتمالاً آهن رخ می‌دهد که میزان سنتز کلروفیل را کاهش می‌دهد (Keles & Onsel, 2004). به نظر می‌رسد متانول از طریق جذب آهن که به عنوان گروه پروستیک هموپروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است (Keles & Onsel, 2004) می‌تواند در



شکل ۶- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر راندمان مصرف آب

Fig. 6. The effect of methanol and drought stress Interaction on water efficiency

* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

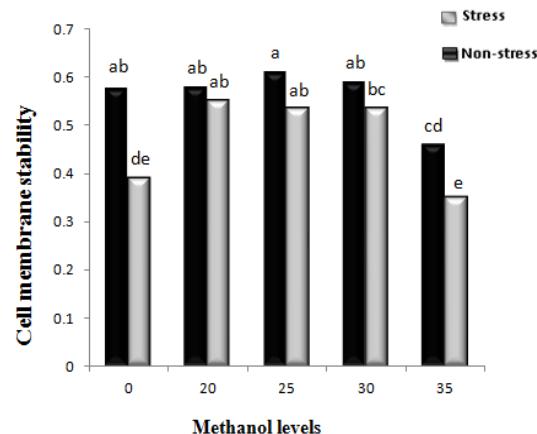
The columns that have letters in common are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to Duncan test.

برهمکنش متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر کارایی مصرف آب داشت. بیشترین میزان در سطح ۳۰ درصد حجمی در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مشاهده شد که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت و کمترین میزان مربوط به سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی بود (شکل ۶). متانول با افزایش آسیمیلاسیون CO_2 در گیاه باعث افزایش کارایی مصرف آب شده است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مصرف متانول در اغلب گیاهان زراعی موجب افزایش کارایی مصرف آب، کاهش تنفس نوری و درنهایت باعث افزایش عملکرد می‌شود (Rowe *et al.*, 1994).

اثر متقابل متانول و تنش بر عملکرد کواتنوم (Fv/Fm) معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود. نتایج نشان می‌دهد که از نظر عملکرد کواتنوم، سطوح مختلف متانول هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند (شکل ۷). همان‌طور که گفته شد افزایش پتانسیل عملکرد کواتنوم (Fv/Fm) دلیلی است که تنش‌های محیطی بر کارایی فتوسنتر تأثیر دارند (Paknejad *et al.*, 2007). سرعت پذیرنده‌های الکترونی در فتوسیستم II در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد سبب کاهش پتانسیل عملکرد کواتنوم (Fv/Fm) می‌شود (Anonymous *et al.*, 1993). با توجه به شکل ۷ تیمارهای تنش و بدون تنش در سطوح مختلف متانول تفاوت معنی‌داری ندارند اما با افزایش مقدار متانول مصرفی عملکرد

اختلاف آن با غالب سطوح تیماری متانول و تنش معنی‌دار نبود (شکل ۴).

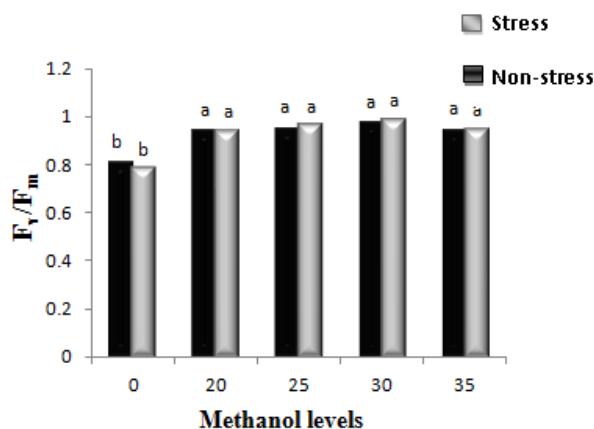
برهمکنش متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر پایداری غشاء سلول‌های برگی داشت. بیشترین میزان پایداری غشاء در تیمار بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۲۵ درصدی متانول بود. بیشترین میزان پایداری غشاء متعلق به سطح ۲۵ درصدی متانول در تیمار بدون تنش خشکی بود که با سطح حجمی ۲۵ و ۳۰ و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان پایداری غشاء هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود (شکل ۵). تنش خشکی از طریق افزایش تولید مواد تخریب‌کننده غشاء از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تخریب غشاء سلولی شده و درنتیجه ضریب پایداری غشاء کاهش می‌یابد. گیاهان متحمل به تنش خشکی مکانیسم‌هایی برای مقابله با تخریب غشاء دارند که یکی از این مکانیسم‌ها تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز است (Jinmiin & Hang, 2001).



شکل ۵- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان پایداری غشاء سلول

Fig. 5. The effect of methanol and drought stress Interaction on cell membrane stability

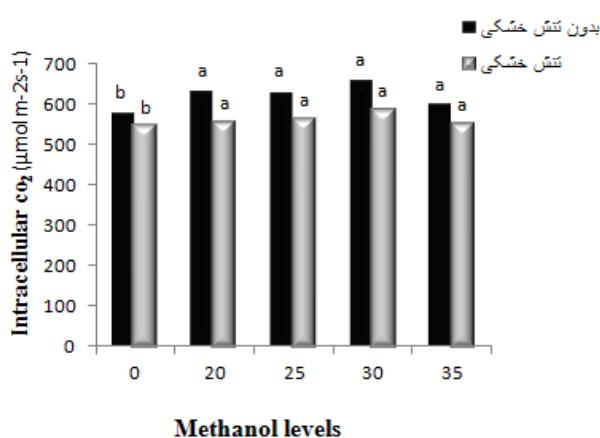
افزایش میزان پایداری غشاء با محلول پاشی متانول اشاره به خواص ضد تنشی متانول دارد که به نظر می‌رسد با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز باعث تجزیه مواد تخریب‌کننده غشاء از جمله پراکسید هیدروژن می‌شود (Jinmiin & Hang, 2001). کاهش ضریب پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی در گیاهان دیگر از جمله گندم و زیتون نیز گزارش شده است (Guerfel *et al.*, 2008).



شکل ۸- اثر متقابل متابول و تنش خشکی بر آسیمیلاسیون CO_2

Fig. 8. The effect of methanol and drought stress Interaction on CO_2 assimilation

* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).
The columns that have letters in common are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to Duncan test.



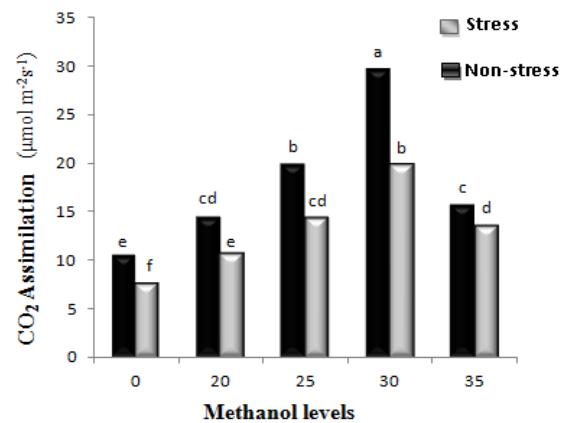
شکل ۹- اثر متقابل متابول و تنش خشکی بر CO_2 درون سلولی

Fig. 9. The effect of methanol and drought stress Interaction on intracellular CO_2

* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).
The columns that have letters in common are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to duncan test.

متانول بعد از محلول‌پاشی از طریق آنزیم متانول اکسیداز تبدیل به فرمالدهید و سپس تبدیل به فرمات (متانوئیک اسید) می‌شود. فرمات در مرحله بعد توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به دی اکسید کربن شده و باعث افزایش CO_2 درون سلولی می‌شود (Nonomura et al., 1992).

کوانتمومی (F_v/F_m) تیمارهای تنش و بدون تنش افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش حفاظت نوری گیاه توسط متانول است (Nonomura et al., 1991). اثرات متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر میزان تثبیت CO_2 داشت.



شکل ۷- اثر متقابل متابول و تنش خشکی بر عملکرد کوانتموم فتوشیمیابی

Fig. 7. The effect of methanol and drought stress Interaction on F_v/F_m

نتایج بررسی‌ها نشان داد که بیشترین میزان تثبیت CO_2 در سطح ۳۰ درصد متانول هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی مشاهده شد و کمترین میزان تثبیت CO_2 به تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی متانول) تعلق داشت (شکل ۸). Zebic et al. (1992) گزارش کردند که محلول‌پاشی متانول باعث افزایش غلظت CO_2 شده که می‌تواند میزان تثبیت CO_2 را در گیاه افزایش دهد. گیاهان می‌توانند متانول محلول‌پاشی شده را برگ‌ها را به راحتی جذب و آن را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند. متانول در مقایسه با CO_2 ، مولکول نسبتاً کوچکتری است که به راحتی توسط گیاهان، جذب شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gout et al., 2000; Downie et al., 2004). اثر متقابل متانول و تنش بر میزان CO_2 درون سلولی معنی‌دار (P ≤ 0.01) بود. بیشترین میزان CO_2 درون سلولی به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول اختصاص داشت که با دیگر سطوح متانول اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان آن به سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مربوط بود که نسبت به سطوح متانول کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۹).

سپاسگزاری

پروژه تشکر و قدردانی نماییم. همچنین از سرکار خانم احمدپور و جناب آقای بیک خورمیزی برای مساعدت‌های بی‌دربیشان در انجام این پروژه کمال تشکر را داریم.

بجا و شایسته است از دانشگاه تربیت معلم تهران به منظور پشتیبانی‌های مالی و از مسئولان محترم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت در اجرای این

منابع

- Anonymous, A. 1993. An introduction to Fluorescence Measurements with the Plant Efficiency Analyzer. Hansatech instruments Ltd., England.
- Bagheri, A., Nezami, A., Ganjeali, A., and Parsa, M. 1997. Agronomy and breeding chickpea. Publications Jahad University of Mashhad. (In Persian).
- Boyer, J.S., Armand, P.A. and Sharp, R.E. 1987. Light stress and leaf water relations. In: Kyle, D.J., C.B. Osmoud and C.J. Arntzen (eds), Photoinhibition, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp: 111-122.
- Clover, G., Smith, H., and Jaggard, K. 1998. The Crop under Stress. British Sugar Beet Review 66 (3): 17-19.
- Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, P., Coleman, J., Parry, M., and Haslam, R. 2004. Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. Phytochem 65: 2305-2316.
- Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A.R., Benson, A. and Douce, R. 2000 plant Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. Plant Physiol. 123: 287-296.
- Hemming, D.J.B., Criddle, R.C. and Hansen, L.D. 1995. Effects of methanol on plant respiration. Journal of Plant Physiology 146:193-198.
- Holland, M.A. 1997. Occams razor applied to hormonology. Are cytokinins produced by plants? Plant Physiol. 115: 865-868.
- Hosseinzadeh, S.R., Salimi, A., and Ganjeali, A. 2011. Effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Environmental Stresses in Crop Science 4: 140-150.
- Hosseinzadeh, S. R., Salimi, A., Ganjeali, A and Ahmadpour, R. 2012. Effects of foliar application of methanol on growth and root characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. European Journal of Experimental Biology 2 (5):1697-1702.
- Hsiao, T.C. 2000. Leaf and root growth in relation to water status. Horticultural Science 35: 1051-1058.
- Khafagi, O.M.A. and El-Lawendy, W.I. 1997. Effect of different irrigation intervals on sugar beet growth, plant water relations and photosynthetic pigments. Annals of Agricultural Science Moshtohor 35: 305-319.
- Lichtenthaler, H.K. 1992. The Kaustky effect: 60years of chlorophyll fluorescence induction kinetics. Food crops to temperature and water stress, AVRDC, Shanhua, Taiwan, pp: 389-398.
- Lu, Q., Lu, C., Zhang, J. and Kuang, T. 2002. Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. J Plant Physiol 159: 1173-1178.
- Madhaiyan, M., Poonguzhalai, S., Sundaram, S.P., and Sa, T.A . 2006. New insight into foliar applied methanol influencing phylloplane methylotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Environmental and Experimental Botany 57: 168-176.
- Makhdom, I.M., Nawaz, A. Shabab, M., Ahmad, F., and Illahi, F. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. Journal of Research (Science), Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan 13: 37-43.
- Mohammadian, R., Rahimian, H., Moghaddam, M. and Sadeghian, S.Y. 2003. Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. Pakistan Journal of Biological Sciences 6 (20): 1763-1769.
- Nemecek-Marshall, M., MacDonald, R.C., Franzen, J.J., Wojciechowski, C.L., and Fall, R. 1995. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance & leaf development. Plant Physiol 108: 1359-1368.

19. Nonomura, A.M. 1997. Method and composition for enhancing carbon fixation in plants. Proc Natl Acad Sci, U.S.A. 89: 9794-9798.
20. Nonomura, A.M., and Benson, A.A. 1992. The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yields with methanol. Proc. National Acad. Sci., USA, 89: 9794-9798.
21. Ober, E. 2001. The Search for Drought Tolerance in Sugar Beet. British Sugar Beet Review 69 (1): 40-43.
22. Paknejad, F., Majidi heravan, E., Noor mohammadi, Q., Siyadat, A., and Vazan, S. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content & grain yield of wheat cultivars. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5 (4): 162-169.
23. Parsa, M., and Bagheri, A. 2008. Legumes. Mashhad University Jahad Press. (In Persian).
24. Rajala, A., Karkkainen, J., Peltonen, J., and Peltonen-Sainio, P. 1998. Foliar applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C3 crops. Industrial Crop Production 7: 129-137.
25. Ramadant, T., and Omran, Y. 2005. The effects of foliar application of methanol on productivity and fruit quality of grapevine cv. flame seedlees. Vitis Journal 44: 11-16.
26. Ranalli, P., Di Candilo, M. and Bagatta, M. 1997. Drought Tolerance Screening for Potato Improvement. Plant Breeding 116: 290-292.
27. Rowe, R.N., Farr, D.J., and Richards, B.A.J. 1994. Effects of foliar and root applications of methanol or ethanol on the growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill) New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 22: 335-337.
28. Safarzade Vishkaei, M. 2007. Effects of methanol on growth and yield of peanut. Ph. D. thesis. Sciences and Research unit, Islamic Azad University Tehran, Iran, pp 232 (in Persian).
29. Vyshkayy, M., Noormohammadi, Gh., Majidi, A., and Rabii, B. 2008. Effect of methanol on the growth function peanuts. Special Issue Journal of Agricultural Sciences 1: 102-87. (In Persian with English Summary).
30. Wilson, J.M. and Greaves, J.A. 1993. Development of and water stress in crop plants. In: Adaptation of food crops to temperature and water stress, AVRDC, Shanhua, Taiwan, pp: 389-398.
31. Zbiec, I.I., Karczmarczyk, S. and Koszanski, Z. 1999. Influence of methanol on some cultivated plants. Department of Plant Production and Irrigation. Agricultural University of Szczecin Poland 73: 217-220.
32. Zbiec, I., Karczmarczyk, S., and Podsiadlo, C. 2003. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 6 (1):1-7.

Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress

Hosseinzadeh^{1*}, S.R., Cheniany², M. & Salimi³, A.

1. Young Researchers Club, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

2. Contribution from Biology Department, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3. Biology Department, Faculty of Science, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

Received: 7 January 2012

Accepted: 24 June 2012

Abstract

In order to evaluate the effects of foliar application of methanol on some physiological characteristics of chickpea under drought stress, an experiment was conducted as a factorial based on completely randomized design with three replications in 2011 at the Research center of plant for Sciences in Ferdowsi University of Mashhad. The first factor was different levels of methanol including, 0 (control), 20, 25, 30, 35 volumetric percentage (v/v), which were used as foliar applications at three times during growth season of chickpea, with 10 days intervals. Second factor was drought stress condition in two levels 25 and 100 percent of field capacity. Results showed that there was significant difference ($P \leq 0.01$) between methanol levels concentrations regarding to chlorophyll a, b, carotenoid, total chlorophyll content, assimilation CO_2 , relative water content, chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) and membrane stability coefficient. Spraying with 30% volume level significantly increased chlorophyll a and b content, assimilation CO_2 and relative water content compared to control. There was no significant difference on chlorophyll fluorescence (F_v/F_m) between methanol levels, but there was significant increase compared to control. Effects of drought and methanol were not significant differences on carotenoid and relative water content but on the chlorophyll a, b, total chlorophyll content, chlorophyll a/b ratio, CO_2 assimilation, chlorophyll fluorescence (F_v/F_m), intercellular CO_2 and membrane stability coefficient were significant ($P \leq 0.05$).

Key word: Methanol spraying, Physiologic characteristics, Drought stress, Chickpea (*Cicer arietinum* L.)

* Corresponding Author: hossinzadeh_tmu@yahoo.com, Mobile: 09353387899

واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاه عدس (Lens culinaris Medik) به تنفس شوری و محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید*

راغبیه کایدنظامی^۱ و حمیدرضا بلوچی^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۳

چکیده

در بین تنفس‌های محیطی، شوری عامل محدودکننده مهمی در تولید جبوهات در دنیا به شمار می‌آید. در این پژوهش، برهم‌کنش کلریدسیدیم و اسید سالیسیلیک با پارامترهای فیزیولوژیک گیاه عدس به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان شامل سه رقم عدس (کیمیا، کرمانشاه و گچساران)، در معرض غلظت‌های مختلف کلریدسیدیم (۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی توسط اسید سالیسیلیک (۰، ۰/۵ و ۰/۰ میلی‌مولار) قرار گرفتند. در گیاهانی که تنها در معرض کلریدسیدیم قرار داشتند، در مقایسه با گیاهان شاهد، با افزایش غلظت کلروفیل، پارامترهای مانند کلروفیل، کاروتینوئید و محتوای نسبی آب کاهش و مقدار قندهای محلول، نشت‌الکتروولیت، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین و تجمع یون سدیم افزایش یافت. اما گیاهانی که در معرض همزمان کلریدسیدیم و اسید سالیسیلیک قرار داشتند، در مقایسه با گیاهانی که تنها در معرض کلریدسیدیم بودند، در غلظت‌های یکسان کلرید سدیم، رنگیزهای فتوستنتزی و محتوای نسبی آب آن‌ها بیشتر و از میزان قندهای محلول، نشت‌الکتروولیت، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین و یون سدیم کاسته شد. این نتایج نشان می‌دهد که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب افزایش بردباری به تنفس شوری و کاهش اثرهای مضر کلرید سدیم در گیاه عدس می‌شود. همچنین رقم کیمیا در سطوح بالای کلروفیل و محلول‌پاشی با ۰/۰ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بیشترین محتوای نسبی آب، پرولین، قندهای محلول، کلروفیل و کاروتینوئید را داشت.

واژه‌های کلیدی: جبوهات، تنفس اسمزی، ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید، قندهای محلول، رنگیزهای فتوستنتزی

مقدمه

عدس (Lens culinaris) گیاهی یکساله و از خانواده‌ی بقولات است که با داشتن ۱۸-۳۲ درصد پروتئین، نقش مهمی در تأمین پروتئین مورد نیاز انسان دارد (Majnoonhoseini, 1996). همانند سایر جبوهات، اکثر ژنتیک‌های عدس نیز به شوری خاک خیلی حساس هستند (Bagheri et al., 1997). تنفس شوری از تنفس‌های غیر زنده عمدۀ در مناطق خشک و نیمه خشک است که تولید محصولات کشاورزی و امنیت غذایی را در این مناطق تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از سازوکارهای گیاهان در برابر تنفس شوری، تجمع پرولین در سلول است. نقش پرولین در تنظیم اسمزی، تثبیت غشاء و دفع مسمومیت یون‌های مضر در گیاهان تحت تنفس شوری است (Ashraf & Foolad, 2005). تنفس شوری همچنین مقدار

کلروفیل را در مقایسه با شرایط بدون تنفس کاهش داده و با تخریب کلروپلاست‌ها منجر به کاهش فتوستنتز، رشد و عملکرد گیاهان می‌گردد (Cramre, 2002).

سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوط، به گروهی از ترکیبات فنولی تعلق دارد (-El Tayeb, 2005). سالیسیلیک اسید به‌وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد و نمو گیاه ایفا می‌کند (Raskin, 1992). سالیسیلیک اسید یک مولکول پیام‌رسان مهم برای میانجی‌گری پاسخ‌های گیاهان در برابر تنفس‌های محیطی است (Senaratna et al., 2000). کاربرد بیرونی سالیسیلیک اسید اثرهای زیاد و متفاوتی را بر فرآیندهای گیاهی دارد (Cutt & Klessing, 1992). بررسی‌ها نشان داده است که سالیسیلیک اسید موجب جلوگیری از نشت الکتروولیت‌ها و در نتیجه حفاظت از غشاء تیلاکوئیدی در زمان تنفس شوری در گیاه آربیدوپسیس می‌شود (Borsanio et al., 2005).

* نویسنده مسئول: یاسوج، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، کد پستی: ۷۵۹۱۴-۳۵۳، تلفن: ۰۹۱۷۱۸۹۲۰۴۰، balouchi@yu.ac.ir

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت گلدانی در گلخانه و فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا گردید. فاکتور اول شامل سه رقم عدس (کیمیا، کرمانشاه و گچساران)، فاکتور دوم شامل سه سطح شوری (۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک طعام) معادل (۰، ۴/۷ و ۹/۵ دسی‌زیمنس بر متر) و فاکتور سوم محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک شامل گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۰ بودند. واحدهای آزمایش شامل گلدان‌های گلستانی با ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر بود. خاک با نسبت دو به یک از ماسه و رس پر شده بودند. درون هر گلدان تعداد شش عدد بذر در عمق سه سانتی‌متری کاشته شد که بعد از سبز شدن تنک شده و به چهار بوته در هر گلدان رسید. گلدان‌ها از مرحله کاشت تا جوانه‌زنی با آب مقطر آبیاری شده و پس از آن گلدان‌ها با محلول نیم هوگلندر (Hoagland & Arnon, 1950) آبیاری شدند. در مرحله چهار برجی افزودن تدریجی کلریدسدیم شروع شد، به نحوی که ابتدا در هر نوبت آبیاری با ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در محلول هوگلندر اعمال شد. در نوبت‌های بعدی این مقادیر افزایش پیدا کرد و در نهایت در آبیاری سوم و هفتم به ترتیب تیمار ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار به طور کامل انجام شد. هر هفته گلدان‌ها برای جلوگیری از تجمع نمک یک نوبت با محلول‌های رقیق‌تر آبیاری شدند. اعمال تیمارهای شوری تا پایان مرحله رسیدگی ادامه داشت. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۳۰ روز بعد از کاشت بذر انجام شد که با مه‌پاش و به میزان ۳۰ میلی‌لیتر در هر گلدان صورت گرفت (به صورتی که سطح گیاه را کاملاً پوشانده و از آن چکه کند). نمونه‌برداری از برگ‌های جوان گیاه برای اندازه‌گیری رطوبت نسبی به روش لویت (Levit, 1980)، کلروفیل به روش آرنون (Arnon, 1949)، کاروتونئید به روش لیچتندر (Lichtenthaler, 1987)، نشت الکتروولیت‌ها به روش ریتچی و همکاران (Ritchie et al., 1990)، پرولین به روش پاکوئین و لچائز (Paquine & Lechasseur, 1979) قندهای محلول به روش ایریگوئن و همکاران (Irigoyen et al., 1992)، میزان پتاسیم و سدیم به روش پترسون و همکاران (Patterson et al., 1984) مالون دی‌آلدهید به روش هیت و پارکر (Heath & Pacher, 1969) روز بعد از محلول‌پاشی صورت گرفت. محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و Excel و مقایسه میانگین اثرات اصلی با آزمون حداقل میانگین مربعات (LSD) در سطح ۵ درصد و در صورت معنی دار شدن اثر متقابل سه جانبه بعد از برش‌دهی اثرات متقابل میانگین‌ها با آزمون L.S.Means مقایسه شدند.

علاوه بر این تیمار با سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مولار باعث می‌شود تا مالون دی‌آلدهید تولید شده در تنفس شوری در برگ‌ها و ریشه‌های گیاهان جو کاهش یابد (El-Tayeb, 2005).

در مطالعات صورت گرفته، افزایش در محتوای کلروفیل با کاربرد سالیسیلیک اسید روی جو (El-Tayeb, 2005) و ذرت (Gunes et al., 2007) گزارش شده است. در مطالعه‌ای روی توت‌فرنگی، تیمار ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید موجب افزایش در محتوای کلروفیل گیاهان در شرایط بدون تنفس شوری شد (Karlidag et al., 2009). تنفس شوری، مقدار محتوای نسبی رطوبت را در گیاه کاهش می‌دهد. پاریدا و داس، (Parida & Das, 2005) گزارش کردند که محتوای نسبی آب، پتانسیل آب و پتانسیل اسمزی گیاهان بیشتر با افزایش شوری منفی می‌شود. این مطالعه نشان داد که تیمارهای سالیسیلیک اسید موجب افزایش محتوای نسبی رطوبت گیاهان تحت تنفس شوری در مقایسه با گیاهان شاهد می‌گردد. با توجه به بهمریختگی غشا در اثر غلظت‌های بالای سدیم، نشت الکتروولیت‌ها در برگ‌های گیاه تحت تنفس شوری رو به افزایش گزارش شده است (Karlidag et al., 2009). تیمار سالیسیلیک اسید نشت الکتروولیت‌ها را در برگ گیاهان تحت تنفس شوری کاهش داده است و باعث حفاظت از فعالیت‌های غشاء می‌گردد. این تسهیل شدن می‌تواند به پاسخ‌های القایی از آنتی‌اکسیدانت نسبت داده شود که موجب حفاظت گیاه از El-Tayeb, 2005; آسیب اکسایش توسط سالیسیلیک اسید (Essa, 2002) گزارش (Senaratna et al., 2000) می‌گردد. علت آن‌ها کرد که شوری کلریدسدیم نسبت‌های خیلی زیادی از سدیم به پتانسیم و سدیم به کلسیم را در گیاه ایجاد کند. علت آن‌ها مربوط به حساسیت به آسیب‌های اسمزی و یون‌های خاص و علاوه بر این اختلال‌های تغذیه‌ای است. در تنفس شوری کاربرد سالیسیلیک اسید جذب سدیم در گیاهان را کاهش می‌دهد و باعث افزایش جذب فسفر، نیتروژن، پتانسیم، منیزیم و دیگر عناصر در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود (El-Tayeb, 2005; Gunes et al., 2007).

با توجه به اهمیت گیاه عدس از نظر منع تأمین پروتئین در کشور (Bagheri et al., 1997)، هدف از این پژوهش، علاوه بر بررسی آثار تنفس شوری بر گیاه عدس، بررسی نقش حفاظتی سالیسیلیک اسید و نیز برهم‌کنش آن در برابر تنفس اکسیداتیو ناشی از شوری با کلریدسدیم است.

نتایج و بحث

کمترین میزان پایداری غشاء به رقم گچساران و بیشترین مقدار آن مربوط به توده محلی کرمانشاه بود (شکل ۲). اثر محلول‌پاشی گیاهان بر نشت الکتروولیت معنی‌دار شد بهطوری که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک درصد نشت الکتروولیت کم شد. با توجه به جدول ۳ کمترین نشت الکتروولیت مربوط به محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولا را با میزان ۷/۸۸ درصد بود که با شاهد بدون محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک، ۲ درصد کمتر شده بود.

تحقیقات متعددی مطابق با نتایج این پژوهش وجود دارد که نشان می‌دهد هم‌زمان با افزایش غلظت نمک، نشت یونی از سلول‌های برگی افزایش می‌یابد (Kaya *et al.*, 2003; Najafian *et al.*, 2009; Tiwari *et al.*, 2010) بیان کردند که میزان نشت یونی به‌طور معنی‌داری، با کاربرد ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، باعث کاهش نشت الکتروولیت در برگ‌های گیاهان شد. بررسی‌ها نشان داده است که سالیسیلیک اسید موجب جلوگیری از صدمه به اسیدهای چرب غیر اشباع، کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء سلولی شده و در نتیجه نشت الکتروولیت‌ها را کاهش می‌دهد (Borsanio *et al.*, 2001).

تحقیقات متعددی مطابق با نتایج این پژوهش وجود دارد که نشان می‌دهد هم‌زمان با افزایش غلظت نمک، نشت یونی از سلول‌های برگی افزایش می‌یابد (Kaya *et al.*, 2003; Najafian *et al.*, 2009; Tiwari *et al.*, 2010) بیان کردند که میزان نشت یونی به‌طور معنی‌داری، با کاربرد ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، باعث کاهش نشت الکتروولیت در برگ‌های گیاهان شد. بررسی‌ها نشان داده است که سالیسیلیک اسید موجب جلوگیری از صدمه به اسیدهای چرب غیر اشباع، کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء سلولی شده و در نتیجه نشت الکتروولیت‌ها را کاهش می‌دهد (Borsanio *et al.*, 2001).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر شوری، محلول‌پاشی و رقم و تمامی برهمنکنش‌های بین آن‌ها بر میزان پرولین و غلظت قندهای محلول برگ عدس در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به جدول برش‌دهی بر اساس شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین ارقام و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک در سطوح مختلف شوری از نظر میزان پرولین و غلظت قندهای محلول برگ وجود داشت (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده شوری، محلول‌پاشی و رقم، برهمنکنش شوری و رقم بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار شد، در حالی که برهمنکنش محلول‌پاشی و شوری و محلول‌پاشی و رقم و اثر سه جانبی شوری، رقم و محلول‌پاشی بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۱). در هر سه رقم مورد مطالعه با افزایش تنفس شوری میزان محتوای نسبی آب کاهش یافت که این کاهش در رقم کیمیا محتوای به دو رقم دیگر بیشتر بود. در شرایط بدون تنفس شوری اختلاف معنی‌داری از نظر این صفت بین ارقام وجود نداشت. در شرایط شوری ۶۰ میلی‌مولا ر بیشترین میزان محتوای نسبی آب مربوط به رقم گچساران بود، و کمترین میزان آن به رقم کیمیا در سطح شوری ۶۰ میلی‌مولا مربوط شد. با افزایش شوری و رسیدن غلظت نمک به ۱۲۰ میلی‌مولا نیز همین روند ادامه داشت و رقم گچساران با میزان محتوای نسبی آب ۶۴ درصد نسبت به دو رقم دیگر دارای محتوای نسبی آب بیشتر بود (شکل ۱).

کاهش محتوای آب برگ در اثر تنفس از یک طرف به‌دلیل کاهش جذب آب توسط ریشه‌ها و از طرف دیگر افزایش تعرق آب از طریق برگ‌ها می‌باشد که در نهایت منجر به بسته شدن روزنه‌های برگ می‌گردد. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، میزان محتوای نسبی آب نیز بیشتر شد و در غلظت ۰/۵ میلی‌مولا از اسید سالیسیلیک، بیشترین میزان محتوای نسبی آب (۷۰ درصد) بدست آمد (جدول ۳).

Karlidag *et al.* (2009) افزایش در محتوای نسبی آب گیاه توت‌فرنگی تیمار شده با سالیسیلیک اسید را گزارش کردند، همچنین برای دیگر گیاهان که تحت تنفس‌های شوری رشد یافته‌بودند مانند جو (El-Tayeb, 2005) نیز افزایش در محتوای نسبی آب با استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک گزارش شد.

اثرات ساده شوری موجود در محیط ریشه گیاه، رقم و محلول‌پاشی و همچنین برهمنکنش بین رقم و شوری بر میزان نشت الکتروولیت در این آزمایش معنی‌دار شد (جدول ۱). نشت یون‌ها از غشای سلولی برگ در اثر افزایش سطوح شوری در هر سه رقم به تدریج افزایش یافت. در شرایط بدون تنفس کمترین میزان نشت یونی مربوط به رقم گچساران بود. با افزایش غلظت نمک (۶۰ میلی‌مولا) کمترین میزان نشت الکتروولیت به رقم کیمیا تعلق داشت و بیشترین میزان آن به توده محلی کرمانشاه در این سطح شوری مربوط شد. در شوری ۱۲۰ میلی‌مولا

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های صفات فیزیولوژیک ارقام عدس مورد مطالعه تحت تأثیر تنفس شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک

Table 1. Variance analysis of some physiological traits in lentil cultivars under salt stress and foliar application by salicylic acid

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Degree of freedom	محتوای نسبی آب Relative water content	نشت الکتروولیت Electrolyte leakage	پرولین Proline	قندهای محلول Soluble carbohydrates	اسید مالونی آبدید MDA
تکرار	Replication	2	167.003*	2.23 ns	2.58 ns	9.1191 ns
محلول پاشی (۱)	Foliar application (A)	2	399.88**	25.02**	1134.87**	140.24** 4.85**
شوری (۲)	Salt (B)	2	2078.83**	295.89**	5069.65**	3273.33** 44.54**
رقم (۳)	Cultivar (C)	2	158.44**	43.52**	33.93**	36.48** 3.69*
۲ × ۱	A × B	4	34.699 ns	1.83 ns	479.23 ns	178.49** 0.58 ns
۳ × ۱	A × C	4	34.699 ns	2.81 ns	136.47**	43.49** 3.67**
۳ × ۲	B × C	4	88.83*	17.43**	37.66**	90.79** 1.04 ns
۳ × ۲ × ۱	A × B × C	8	18.049 ns	1.46 ns	56.87**	39.28** 2.31 ns
خطای آزمایش	Error	52	33.33	2.23	4.19	5.35 0.75
ضریب تغییرات	CV	%	8.66	7.89	11.03	7.68 24.09

**، * و ns به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns: Non significant * and ** significant at $\alpha = .05$ & $\alpha = .01$ respectively

جدول ۲- تجزیه واریانس برش دهی در سطوح مختلف رقم و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک در هر سطح شوری برای صفات فیزیولوژیک عدس

Table 1. Variance analysis of some physiological traits sliced by lentil cultivars and salicylic acid foliar application under each level of salt stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Degree of freedom	پرولین Proline	قندهای محلول Soluble carbohydrates	اسید مالونی آبدید MDA	کلروفیل a Chlorophyll a
شوری (صفر)	Salt (0)	8	14.73**	26.43**	1.07 ns 0.136**
شوری (۶۰)	Salt (60)	8	200.86**	33.74**	3.066** 0.073**
شوری (۱۲۰)	Salt (120)	8	460.16**	179**	3.012** 0.007 ns

**، * و ns به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns: Non significant * and ** significant at $\alpha = .05$ & $\alpha = .01$ respectively

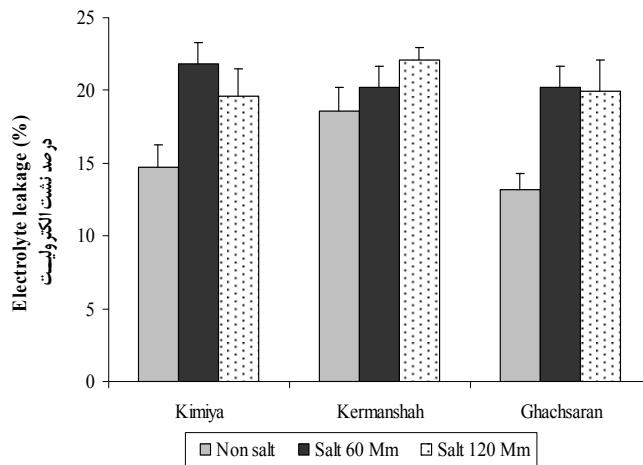
جدول ۳- مقایسه میانگین محلول پاشی با اسید سالیسیلیک بر میزان محتوای نسبی آب، نشت الکتروولیت‌ها و میزان پتابسیم برگ عدس

Table 3. Mean comparison of RWC, Electrolyte leakage and potassium content of lentil leaf under salicylic acid foliar application

محلول پاشی Foliar application	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	نشت الکتروولیت Electrolyte leakage (%)	میزان پتابسیم Potassium content (g.kg ⁻¹ plant dry weight)
آب مقطّر	Distilled water	63.63 ^b	19.79 ^a 3.67 ^b
سالیسیلیک اسید ۰/۲ میلی مolar	salicylic acid 0.2 mM	65.33 ^b	19.08 ^a 3.97a
سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مolar	salicylic acid 0.5 mM	70.98 ^a	17.88 ^b 4.21 ^a
LSD		3.15	0.81 0.25

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش LSD می‌باشند.

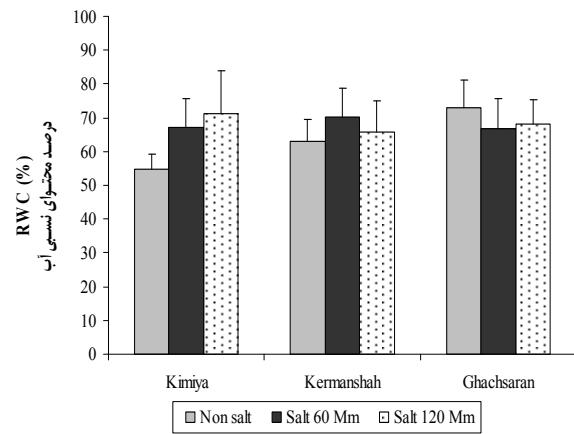
Means within each column with at least a same letter are not significant different at $\alpha = 0.05$ in method LSD



شکل ۲- مقایسه میانگین نشت الکترولیت برگ ارقام عدس تحت تنفس شوری (سطح معنی‌داری ۵ درصد و بارها نشان‌دهنده $SE \pm$ است.
 $(LSD=1/41)$

Fig. 2. Mean comparison of lentil leaf Electrolyte leakage under salinity stress (LSD=1.41 $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

و با افزایش غلظت نمک بر میزان قندهای محلول برگ افزوده شد به طوری که در تنفس شوری ۶۰ میلی‌مولا ر بیشترین میزان قند محلول مربوط به توده محلی کرمانشاه و محلول پاشی با آب مقطر با میزان ۳۴/۲۲ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ بود و کمترین میزان قند محلول در این تیمار به رقم کیمیا و محلول پاشی گیاه با اسید سالیسیلیک ۵/۰ میلی‌مولا ر با میزان ۲۳ تعلق داشت که نسبت به تیمار بدون استفاده از اسید سالیسیلیک، ۶ میلی‌گرم کمتر شده بود. با افزایش غلظت نمک به ۱۲۰ میلی‌مولا ر بیشترین میزان قندهای محلول به رقم کیمیا و تیمار محلول پاشی با آب مقطر تعلق داشت و کمترین مقدار آن مربوط به همان رقم در محلول پاشی با اسید سالیسیلیک ۵/۰ میلی‌مولا ر با میزان ۲۹/۵ میلی‌گرم که نسبت به شاهد ۲۳ میلی‌گرم کمتر شده بود (شکل ۴). در گیاه سیاه‌دانه با افزایش غلظت کلرید سدیم، محتوای قندهای محلول در اندام‌های هوایی نسبت به شاهد افزایش یافت و در حضور اسید آسکوربیک افزایش معنی‌داری در محتوای قند محلول اندام هوایی، در مقایسه با شاهد مشاهده شد (Ghorbanli *et al.*, 2010). تجمع متابولیت‌های نظری قندها اغلب در گیاهان تحت وضعیت‌های نامساعد مشاهده می‌شوند (Ghorbanli *et al.*, 2010). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد در تیمارهایی که



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان محتوای نسبی آب برگ ارقام عدس تحت تأثیر شوری (سطح معنی‌داری ۵ درصد و بارها نشان‌دهنده $SE \pm$ است.
 $(LSD=5/46)$

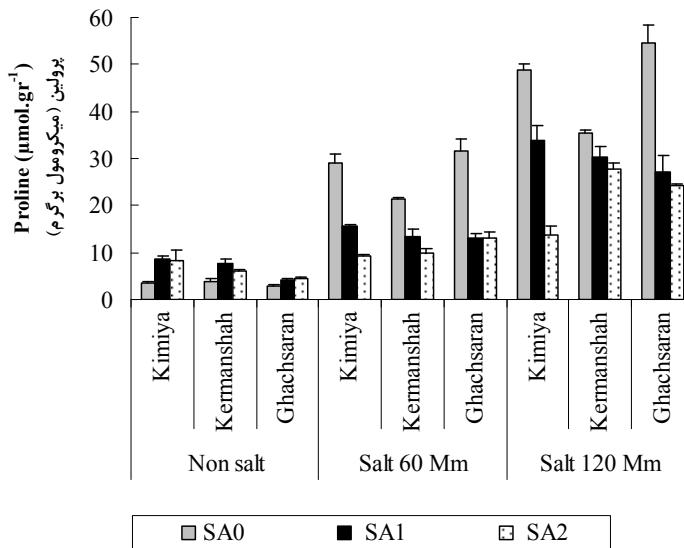
Fig. 1. Mean comparison of lentil leaf RWC under salinity stress (LSD=5.46 $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

با افزایش شوری در همه‌ی تیمارها میزان پرولین افزایش یافت. در شرایط بدون شوری بیشترین مقدار پرولین مربوط به رقم کیمیا و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولا ر و به میزان ۸/۵۷ میکرومول بر گرم بود. همچنین با افزایش شوری به غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولا ر بیشترین مقدار پرولین (۳۱/۴۷ و ۳۱/۴۲ میکرومول بر گرم) در رقم گچساران و تیمار محلول پاشی با آب مقطر مشاهده شد و کمترین مقدار آن در این دو سطح از شوری مربوط به رقم کیمیا و محلول پاشی توسط اسید سالیسیلیک ۵/۰ میلی‌مولا ر بود که نسبت به شاهد بدون اسید سالیسیلیک به میزان ۲۰ و ۳۴ میکرومول بر گرم کاهش نشان داد (شکل ۳). افزایش غلظت پرولین با زیاد شدن شوری توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Keshta *et al.*, 1999). افزایش پرولین احتمالاً به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز پرولین یعنی اورنیتین‌آمینوترانسفراز و پرولین کربوکسیلاز‌ردوکتاز و به علاوه به علت جلوگیری از فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز و آنزیم کاتابولاز می‌باشد (Madan *et al.*, 1995) که در این آزمایش مورد بررسی قرار نگرفتند.

در تیمار بدون تنفس شوری کمترین میزان غلظت قندهای محلول به رقم کرمانشاه و محلول پاشی با آب مقطر تعلق داشت

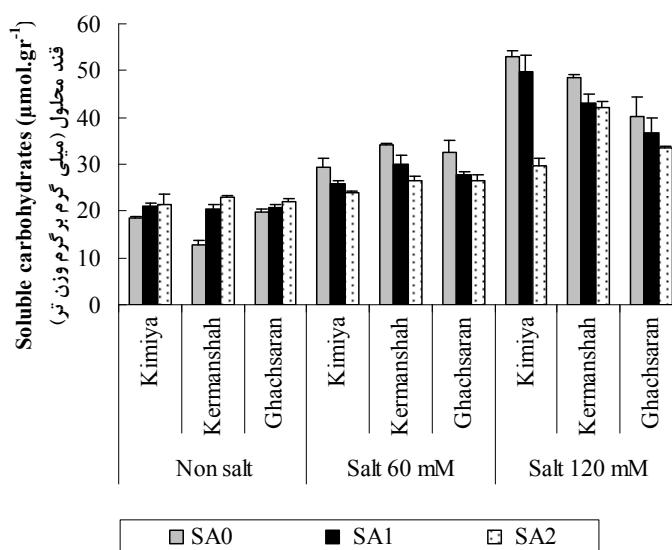
غلظت‌های یکسان کلریدسدیم، کاهش در محتوای قندهای محلول مشاهده شد.

تحت تنش شوری و اسید سالیسیلیک واقع شده بودند در مقایسه با نیمارهایی که تنها تحت تنش شوری قرار داشتند، در



شکل ۳ - مقایسه میانگین میزان پرولین برگ ارقام عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک با سطح معنی‌داری LSD= ۳/۳۵ درصد و بارها نشان‌دهنده است. SE± ۵

Fig. 3. Mean comparison of lentil leaf proline under salinity stress and foliar application (LSD=3.35 $\alpha=0.05$ and bar is $\pm\text{SE}$). (SA0, SA1 and SA2 foliar application by distilled water, salicylic acid (0.2, 0.5 mM) respectively.)



شکل ۴ - مقایسه میانگین میزان قند محلول برگ ارقام عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک با سطح معنی‌داری LSD= ۳/۷۹ درصد و بارها نشان‌دهنده است. SE± ۵

Fig. 4. Mean comparison of lentil leaf Soluble carbohydrates under salinity stress and foliar application (LSD=3.79 SE). (SA0, SA1 and SA2 foliar application by distilled water, salicylic acid (0.2, 0.5 mM± $\alpha=0.05$ and bar is respectively.)

می‌توانند از بسته شدن روزنه‌ها به واسطه‌ی افزایش پراکسید-هیدروژن جلوگیری نمایند و همچنین از آسیب‌های

اسید سالیسیلیک و ترکیبات مشابه آن همانند اسید آسکوربیک که توانایی حذف پراکسیدهیدروژن را دارا می‌باشند،

پراکسیداسیون لیپیدها و تولید مالوندی‌آلدهید به عنوان شاخصی برای میزان خسارت تنفس‌های اکسیداسیون به کار می‌رود.

برهمکنش بین محلول‌پاشی، رقم و شوری اثر معنی‌داری در میزان کلروفیل a برگ در سطح احتمال یک درصد نشان داد؛ ولی برهمکنش محلول‌پاشی و شوری بر میزان این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۴). با توجه به جدول برش‌دهی تفاوت معنی‌داری در سطح بک درصد بین ارقام و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولا برای میزان کلروفیل a وجود نداشت ولی در سطوح شوری ۶۰ و ۴۰ میلی‌مولا تفاوت معنی‌داری بین ارقام و سطوح محلول‌پاشی برای میزان کلروفیل a وجود داشت (جدول ۲). بیشترین میزان محتوای کلروفیل a، در هر سه رقم مورد مطالعه مربوط به شاهد (بدون تنفس) بود. که بیشترین مقدار آن به رقم کیمیا در محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولا تعلق داشت. کمترین میزان کلروفیل a در کلیه تیمارها مربوط به رقم کیمیا و سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولا و محلول‌پاشی با آب مقطر بود. در شوری ۶۰ میلی‌مولا رقم کیمیا و سطح محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولا از اسید سالیسیلیک بیشترین میزان محتوای کلروفیل a ۰/۶۱۶ میلی‌گرم در هر گرم وزن (تر) را دارا بود که در مقایسه با شاهد ۰/۳۵۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ بیشتر شده بود (شکل ۶).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده محلول‌پاشی و شوری و برهمکنش شوری و رقم و همچنین شوری و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک به طور جداگانه بر کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار شد؛ ولی اثر متقابل شوری، رقم و محلول‌پاشی بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۴). میزان کلروفیل b نیز با افزایش غلظت نمک کاهش یافت به طوری که بیشترین میزان کلروفیل b به رقم کیمیا و تیمار بدون تنفس شوری مربوط بود. در سطح تنفس شوری ۶۰ میلی‌مولا بیشترین مقدار کلروفیل b مربوط به توده محلی کرمانشاه با میزان ۱/۰۰۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ بود. با افزایش میزان تنفس و رسیدن غلظت نمک به ۱۲۰ میلی‌مولا نیز بیشترین میزان کلروفیل b به توده محلی کرمانشاه تعلق داشت (شکل ۷). با توجه به شکل (۸) در شرایط بدون تنفس شوری بیشترین میزان کلروفیل b به محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولا بیشترین میزان کلروفیل b به ۱/۱۱ میلی‌گرم در وزن تر برگ) به محلول‌پاشی توسط اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولا تعلق داشت.

اکسیداسیون ناشی از تجمع انواع اکسیژن‌های فعال بر آنزیم‌های چرخه کالوین بکاهند (Chen & Gallie, 2004) بنابراین اسید سالیسیلیک و آسکوربیک سبب بهبود فتوسنتز و تولید فرآورده‌های کربنی می‌شوند. افزایش قندهای محلول در شرایط تنفس با تأثیر بر پتانسیل اسمزی در حفظ سلامت و عملکرد غشاء‌های سلولی که در شرایط تنفسی دچار آسیب می‌شوند، نقش دارد (Kaur *et al.*, 2000).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش بین محلول‌پاشی، رقم و شوری در مورد میزان مالوندی‌آلدهید برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). با توجه به جدول برش‌دهی، معنی‌داری در سطح یک درصد بین ارقام و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک در سطح شوری صفر برای میزان مالوندی‌آلدهید وجود نداشت ولی در سطوح شوری ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولا برای میزان مالوندی‌آلدهید اسید وجود داشت (جدول ۲). در غلظت شوری به ۶۰ میلی‌مولا، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولا در توده محلی کرمانشاه و ۰/۵ میلی‌مولا در رقم گچساران کمترین میزان مالوندی‌آلدهید اسید ۲/۶۷ میکرومول بر گرم (را نشان دادن)، در حالی که بیشترین مقدار مالوندی‌آلدهید در رقم گچساران و کرمانشاه و بدون کاربرد اسید سالیسیلیک بود. همچنین وقتی که شوری به ۱۲۰ میلی‌مولا رسید، کمترین مقدار مالوندی‌آلدهید مربوط به توده محلی کرمانشاه و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۰ میلی‌مولا بود (شکل ۵). در گندم نیز با افزایش تنفس شوری مقدار مالوندی‌آلدهید حاصل از تنفس اکسیداتیو در گیاهچه افزایش یافت؛ اما کاربرد ۰/۵ میلی‌مولا اسید سالیسیلیک سبب کاهش محتوای مالوندی‌آلدهید در بذرهای تنفس دیده شد (Doulatabadian *et al.*, 2008). تنفس شوری سبب کاهش یکپارچگی غشاء سلولی و آزاد شدن الکترولیتها و مواد درون سلول و افزایش پراکسیداسیون لپیدهای غشاء سلول می‌شود؛ حاصل پراکسیداسیون لپیدهای غشاء ترکیباتی مانند مالوندی‌آلدهید، پروپانال، بوتانال، دی‌متیل استمال و غیره می‌باشد. این مواد به عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری مقدار پراکسیداسیون لپیدهای استفاده می‌شود (Doulatabadian *et al.*, 2008). این گونه به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک با پاکسازی رادیکال‌های آزاد، از پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالوندی‌آلدهید می‌گردد. نتایج Doulatabadian *et al* (2008) نشان داد که مصرف آسکوربیک سبب کاهش در اکسیداسیون چربی‌های غشای سلولی و کاهش محتوای مالوندی‌آلدهید در برگ‌های گیاه کلزا گردیده است.

میزان تنفس و رسیدن غلظت نمک به ۱۲۰ میلی‌مولار نیز بیشترین میزان کلروفیل کل به توده محلی کرمانشاه تعلق داشت (شکل ۹).

میزان کلروفیل کل نیز با افزایش غلظت نمک کاهش یافت. در شرایط بدون تنفس و سطح ۶۰ میلی‌مولار، بیشترین میزان کلروفیل کل نیز به رقم کیمیا تعلق داشت. با افزایش

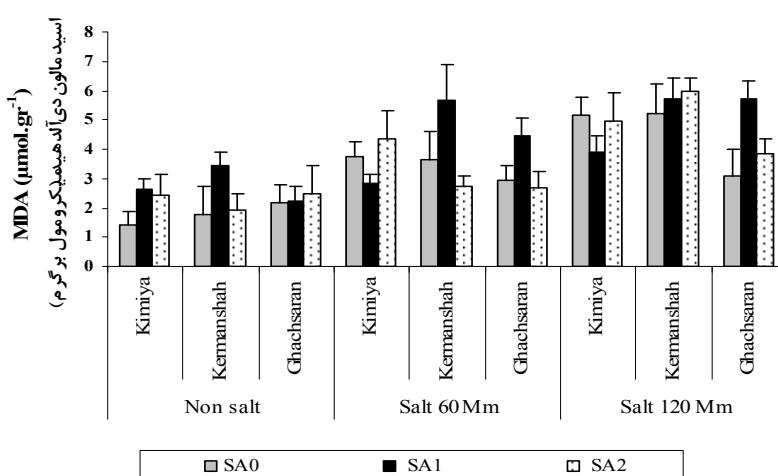
جدول ۴- تجزیه واریانس داده‌های صفات رنگیزهای فتوسنتزی و مواد معدنی ارقام عدس مورد مطالعه تحت تأثیر تنفس شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک

Table 4. Variance analysis of photosynthetic pigments and minerals traits in lentil cultivars under salt stress and foliar application by salicylic acid

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Degree of freedom	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	a+b Chlorophyll a+b	کاروتونوئید Carotenoid	سدیم Sodium	پتاسیم Potassium
تکرار	Replication	2	0.0053 ns	0.013 ns	0.069 ns	1.04 ns	0.16 ns
محلول پاشی (۱)	Foliar application (A)	2	0.093**	0.36**	0.37**	6.47ns	6.10**
(۲) شوری	Salt (B)	2	1.64**	2.53**	6.77**	413.67**	432.5**
(۳) رقم	Cultivar (C)	2	0.33**	0.029ns	0.13*	29.77**	14.73**
۲ × ۱	A × B	4	0.0081 ns	0.0399*	0.22**	11.59**	3.49**
۳ × ۱	A × C	4	0.065**	0.0089 ns	0.021 ns	4.25 ns	0.44 ns
۳ × ۲	B × C	4	0.068**	0.46**	0.56**	3.16 ns	4.72**
۳ × ۲ × ۱	A × B × C	8	0.039**	0.025 ns	0.034 ns	3.09 ns	0.6ns
خطای آزمایش	Error	52	0.0039	0.016	0.031	2.31	0.405
ضریب تغییرات	CV	%	18.82	12.72	13.11	16.37	10.92
							11.84

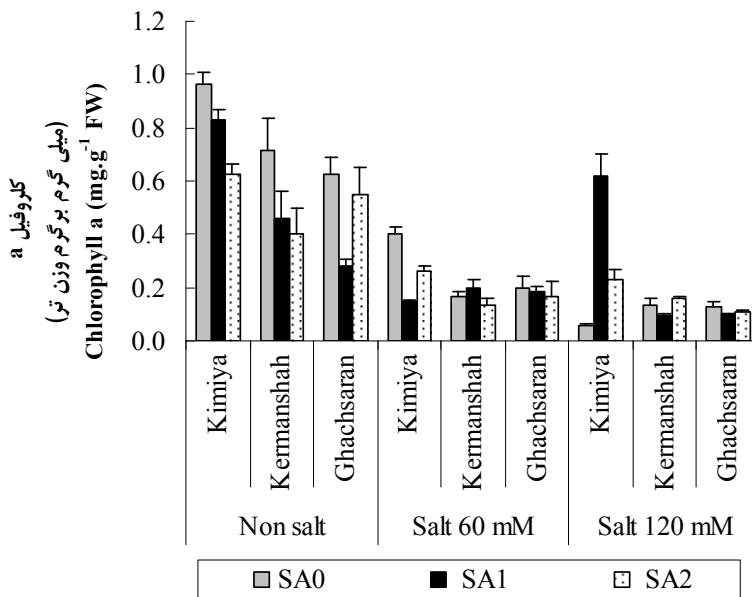
*, ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ ns

ns: Non signification * and ** significant at $\alpha=0.05$ & $\alpha=0.01$ respectively



شکل ۵- مقایسه میانگین میزان مالون دی‌آلدهید برگ ارقام عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (LSD= ۱.۴۲ درصد و بارها نشان‌دهنده ± SE است)

Fig. 5. Mean comparison of lentil leaf MDA under salinity stress and foliar application (LSD=1.42 $\alpha=0.05$ and bar is \pm SE). (SA0, SA1 and SA2 foliar application by distilled water, salicylic acid (0.2, 0.5 mM) respectively.



شکل ۶- مقایسه میانگین میزان کلروفیل a برگ ارقام عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (LSD=۰/۱۰ SE \pm است)

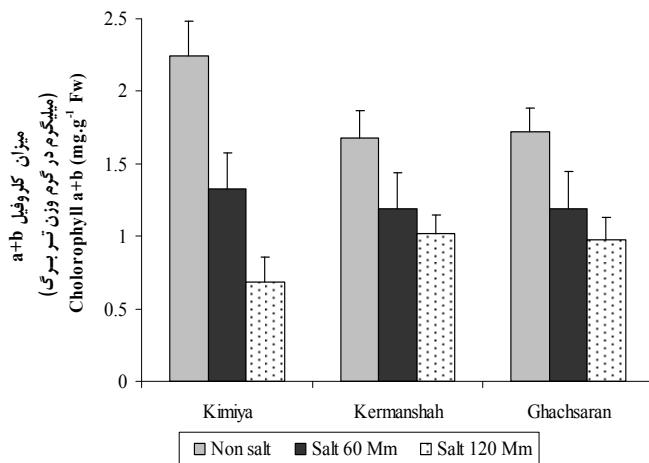
Fig. 6. Mean comparison of lentil leaf chlorophyll a under salinity stress and foliar application (LSD=0.10 α=0.05 and bar is \pm SE). (SA0, SA1 and SA2 foliar application by distilled water, salicylic acid (0.2, 0.5 mM) respectively.

نتایج این آزمایش نشان داد که در گیاهانی که فقط تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفته بودند، محتوای کلروفیل های a و b و به تبع آن کلروفیل کل و همچنین محتوای کاروتونئیدها کاهش یافته است. بهطوری که کاهش محتوای کلروفیل ها و کاروتونئیدها با افزایش غلظت کلریدسدیم رابطه مستقیم نشان می دهد. گزارش های متعددی حکایت از کاهش محتوای کلروفیل ها و کاروتونئیدها تحت تنش شوری دارد که از جمله Stoeva & Kaymakanova, (2008) اشاره کرد.

در پژوهش حاضر، در تیمارهایی که تحت تنش شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک قرار گرفتند، اثر جبران کنندگی بر محتوای کلروفیل a+b a+b و کاروتونئید گیاه عدس مشاهده شد. Parida & Das (2005) بیان کردند که محتوای کلروفیل و کاروتونئیدهای گیاهان، تحت شرایط شوری کاهش پیدا می کند. به این ترتیب برگ ها در اثر شوری ابتدا کلروز یافته و سپس شروع به ریزش می کنند. کاهش در رنگدانه های فتوستنتزی گیاهان تحت شرایط شوری عموماً در اثر جلوگیری از بیوسنتر و یا تجزیه ای آن ها صورت می پذیرد (Khan et al., 2006).

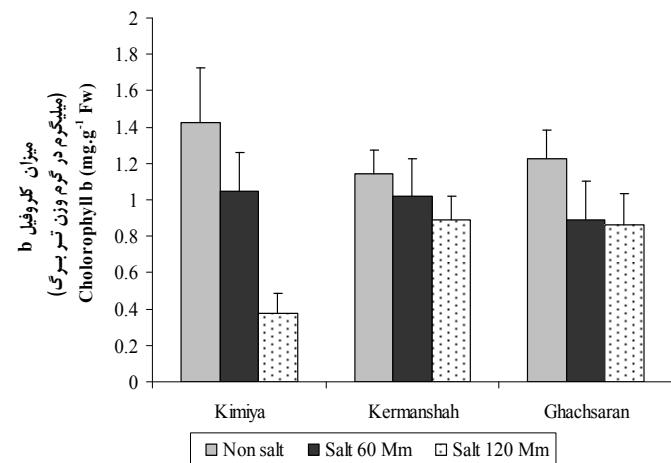
با افزایش شوری میزان کلروفیل کل کاهش یافت و استفاده از اسید سالیسیلیک باعث بهبود میزان کلروفیل کل در گیاه عدس شد. در تیمار بدون تنش شوری بیشترین میزان کلروفیل کل به محلول پاشی توسط اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی مولار تعلق داشت. در سطح شوری ۶۰ و ۱۲۰ میلی مولار بیشترین میزان کلروفیل کل به تیمار محلول پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی مولار تعلق داشت (شکل ۱۰).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده رقم و شوری و همچنین برهمنکش شوری و محلول پاشی بر میزان کاروتونئید معنی دار شد ولی اثر سه جانبی شوری، رقم و محلول پاشی بر این صفت معنی دار نشد (جدول ۴). در بین ارقام مورد مطالعه رقم کیمیا بیشترین و رقم گچساران کمترین میزان کاروتونئید برگ را دارا بودند (شکل ۱۱). محتوای کاروتونئیدها نیز نسبت به شاهد با افزایش غلظت کلریدسدیم کاهش یافت. در شرایط بدون تنش شوری بیشترین میزان این صفت به محلول پاشی با آب مقطمر و در شوری ۶۰ و ۱۲۰ میلی مولار بیشترین میزان کاروتونئید به محلول پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی مولار با میزان ۷/۲۹ و ۸/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر تعلق داشت (شکل ۱۲).



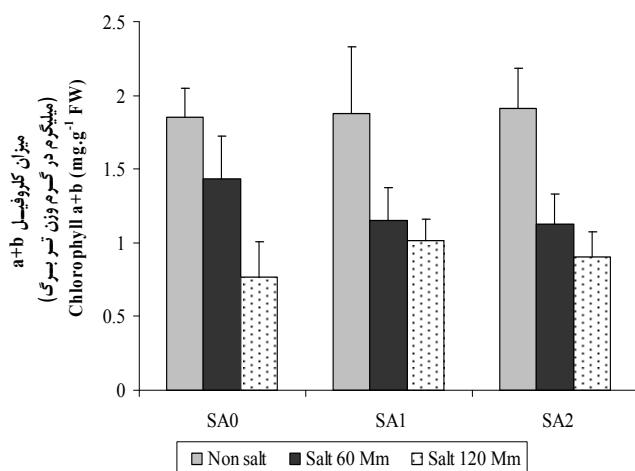
شکل ۹- مقایسه میانگین میزان کلروفیل a+b برگ ارقام عدس تحت تأثیر تنفس شوری (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm$ است. $LSD = 0.16$ $\alpha = 0.05$ و بارهای $\pm SE$ است).

Fig. 9. Mean comparison of lentil leaf chlorophyll a+b under salinity stress ($LSD=0.16$ $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).



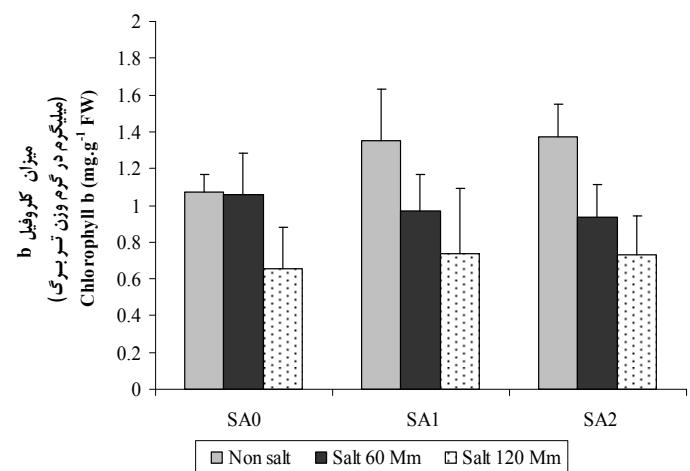
شکل ۷- مقایسه میانگین میزان کلروفیل b برگ ارقام عدس تحت تأثیر تنفس شوری (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm$ است. $LSD = 0.11$ $\alpha = 0.05$ و بارهای $\pm SE$ است).

Fig. 7. Mean comparison of lentil leaf chlorophyll b under salinity stress ($LSD=0.11$ $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).



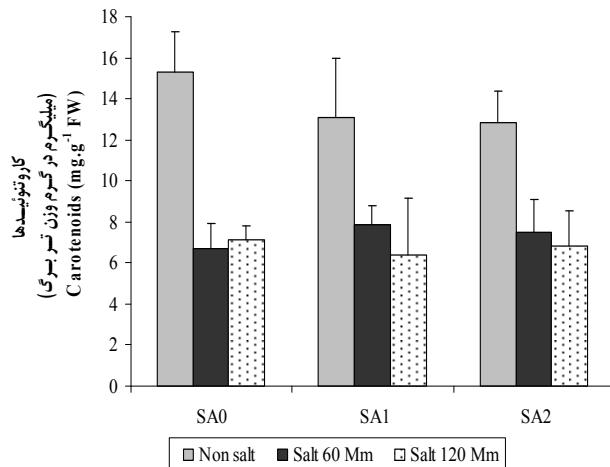
شکل ۱۰- مقایسه میانگین میزان کلروفیل a+b برگ عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm$ است. $LSD = 0.16$ $\alpha = 0.05$ و $SA_2 > SA_1 > SA_0$ به ترتیب محلول پاشی با آب مقطر، اسید سالیسیلیک ۰.۲ و ۰.۵ میلی مولار است).

Fig. 10. Mean comparison of lentil leaf chlorophyll b under salinity stress and foliar application ($LSD=0.16$ $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$). (SA0, SA1 and SA2 foliar application by distilled water, salicylic acid (0.2, 0.5 mM) respectively.



شکل ۸- مقایسه میانگین کلروفیل b برگ عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm$ است. $LSD = 0.11$ $\alpha = 0.05$ و $SA_2 > SA_1 > SA_0$ به ترتیب محلول پاشی با آب مقطر، اسید سالیسیلیک ۰.۲ و ۰.۵ میلی مولار است).

Fig. 8. Mean comparison of lentil leaf chlorophyll b under salinity stress and foliar application ($LSD=0.11$ $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$). (SA0, SA1 and SA2 foliar application by distilled water, salicylic acid (0.2, 0.5 mM) respectively.

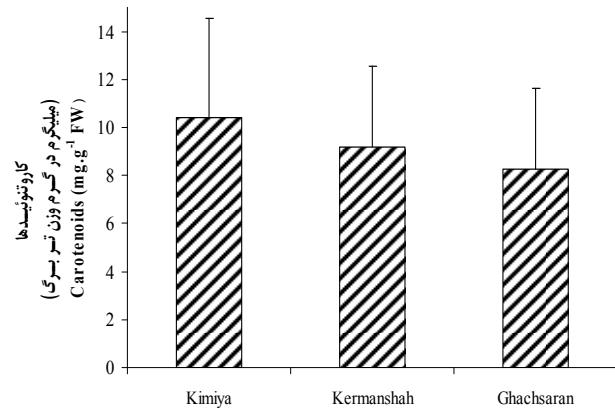


شکل ۱۲- مقایسه میانگین میزان کاروتونوئید تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (سطح معنی‌داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm$ است. $LSD = 1/4$)

Fig. 12. Mean comparison of lentil leaf carotenoids under salinity and foliar application stress ($LSD=1.4$ $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

شاهد بدون تنفس به میزان ۸ گرم افزایش داشت (شکل ۱۳). در حالت بدون تنفس بین ارقام مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت؛ ولی در سطح شوری ۶۰ میلی‌مولاک کمترین تجمع سدیم در رقم گچساران با میزان ۵/۸۸ گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه بود. با افزایش غلظت نمک به ۱۲۰ میلی‌مولاک وزن خشک گیاه روند ادامه داشت (شکل ۱۳). افزایش غلظت سدیم نیز همین روند ادامه داشت (شکل ۱۳). افزایش غلظت سدیم در گیاه در مواجه با تنفس شوری توسط دیگر پژوهشگران نیز برای گیاهان سویا (Essa, 2002) گزارش شده است. کمترین میزان تجمع سدیم در غلظت‌های نمک (۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولاک) و محلول پاشی توسط اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولاک بود که نسبت به شاهد کاهش قابل توجهی یافت (شکل ۱۴).

Ashraf *et al* (2001) بیان کردند که با افزایش شوری در گونه‌های کلزا، غلظت کلسیم، سدیم و کلر ریشه و اندام هوایی افزایش و غلظت پتابسیم کاهش می‌یابد. افزایش در فتوسنتر با استفاده از ۰/۵ میلی‌مولاک اسید سالیسیلیک تیمار شده گیاهان تحت تنفس شوری به خاطر کاهش محتوای یون‌های سدیم و کلر و افزایش محتوای عناصر غذایی است. Gunes *et al* (2005) پیشنهاد کردند که تیمار اسید سالیسیلیک اثرهای منفی از نمک را روی محتوای عناصر غذایی خنثی می‌کند.

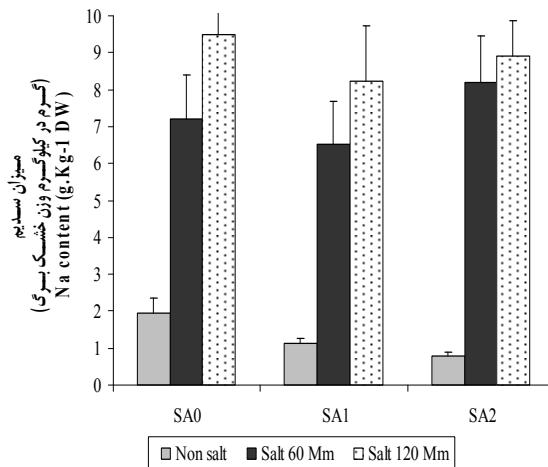


شکل ۱۱- مقایسه میانگین میزان کاروتونوئید برگ ارقام مختلف عدس (سطح معنی‌داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm$ است. $LSD = 0/83$)

Fig. 11. Mean comparison of leaf carotenoids in lentil varieties ($LSD=0.83$ $\alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

در واقع تنفس شوری منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست‌ها شده و در نتیجه غشای کلروپلاستی صدمه دیده و قابلیت حیاتی خود را از دست می‌دهد. از سوی دیگر کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و یا اثر مستقیم سمیت یونی ناسی از غلظت بالای سدیم نیز به وجود می‌آید (Khan *et al.*, 2006). اثرهای مثبت اسید سالیسیلیک به یک افزایش آسیمیلاسیون و درصد فتوسنتر و افزایش جذب مواد معدنی توسط گیاهان تنفس دیده تحت تیمار اسید سالیسیلیک نسبت داده شده بود (Khan *et al.*, 2003). تنفس شوری کلروفیل را نسبت به شرایط بدون شوری کاهش می‌دهد. مشابه اثرهای نامطلوب تنفس شوری بر محتوای کلروفیل روی توتفرنگی که توسط کایا و همکاران (Kaya *et al.*, 2003) بیان شده بود.

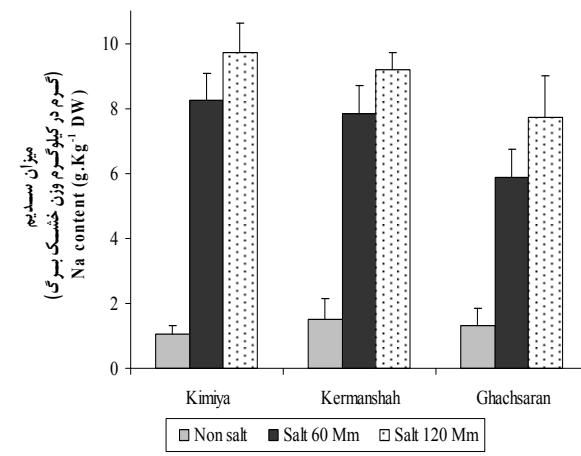
با توجه به جدول تجزیه واریانس، اثر ساده محلول پاشی، شوری و رقم، همچنین برهمکنش شوری و رقم و شوری و محلول پاشی بر غلظت سدیم در برگ معنی‌دار بود؛ ولی برهمکنش شوری، رقم و محلول پاشی بر میزان سدیم معنی‌دار نشد (جدول ۴). با افزایش غلظت نمک میزان سدیم گیاهچه‌ها افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان سدیم در شوری ۱۲۰ میلی‌مولاک (۹/۷۱ گرم) و مربوط به رقم کیمیا بود که نسبت به



شکل ۱۴- مقایسه میانگین میزان سدیم برگ عدس تحت تأثیر شوری و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm 0.60$ است).

Fig. 14. Mean comparison of lentil leaf Na content under salinity and foliar application stress ($LSD=0.60 \alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

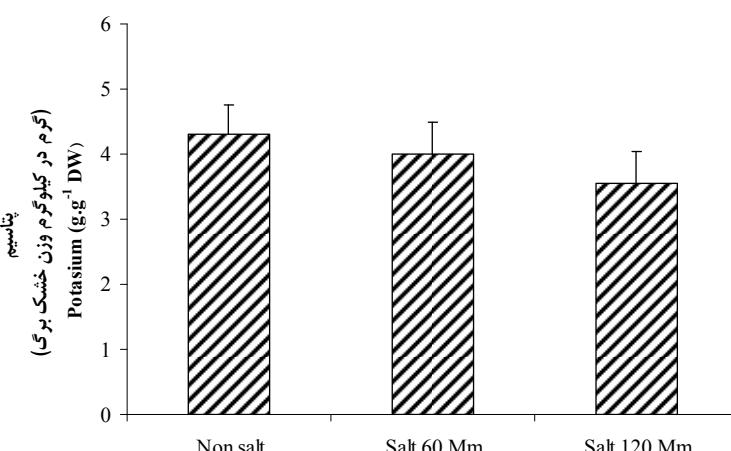
پتاسیم کاسته شد، در تنش شوری با غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کمترین میزان پتاسیم مشاهده شد (شکل ۱۵). با توجه به جدول ۳ بیشترین میزان پتاسیم مربوط به محلول پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار بود.



شکل ۱۳- مقایسه میانگین میزان سدیم برگ ارقام عدس تحت تأثیر تنش شوری (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm 0.602$ است).

Fig. 13. Mean comparison of lentil leaf Na content under salinity stress ($LSD=0.602 \alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

نتایج نشان داد که اثر تنش شوری و اسید سالیسیلیک هر کدام به طور جداگانه بر میزان پتاسیم معنی دار شد (جدول ۴). به طوری که بیشترین میزان پتاسیم مربوط به شرایط بدون تنش شوری بود و با افزایش میزان غلظت نمک از میزان



شکل ۱۵- مقایسه میانگین میزان پتاسیم برگ عدس تحت تنش شوری (سطح معنی داری ۵ درصد و بارها نشان دهنده $SE \pm 0.25$ است).

Fig. 15. Mean comparison of lentil leaf potassium under salinity stress ($LSD=0.25 \alpha=0.05$ and bar is $\pm SE$).

تجمع سدیم و کلر در برگ‌ها باعث مسمومیت گیاه شده و اختلال در رشد و جذب عناصر از جمله پتابسیم را موجب می‌شود، که محلول‌پاشی توسط اسید سالیسیلیک باعث کاهش تجمع سدیم در گیاه می‌شود. بیشترین میزان پتابسیم و کمترین میزان سدیم در گیاه به تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۰/۵٪ تعلق داشت. سالیسیلات یک تنظیم‌کننده‌ی رشد می‌باشد که مقادیر زیاد و کم آن اثرات متفاوت بر رشد گیاه و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه می‌گذارد. همچنین اثر غلظت‌های مختلف بر میزان قندهای محلول و کلروفیل در مقایسه با شاهد تغییرات معنی‌داری را ایجاد کرد. سالیسیلیک اسید با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن، به خاطر کاهش فعالیت کاتالاز در گیاه پیامی را سبب می‌شود که در ادامه موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید می‌گردد. کاهش میزان کلروفیل در برگ‌های گیاه، کاهش فعالیت فتوسنتزی و رشد را باعث می‌شود که استفاده از محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در گیاهان عدس باعث افزایش تعداد سلول‌های مزوفیل، غلظت کلروپلاست و مقدار کلروفیل شده و لذا هدر رفت نوری کاهش یافته و بنابراین توان فتوسنتزی برگ بیشتر می‌گردد که این مطلب باعث تولید عملکرد بیولوژیک بیشتر می‌شود. نتایج نشان داد که استفاده از اسید سالیسیلیک ۰/۵٪ میلی‌مولا ر از اسید سالیسیلیک سبب افزایش مقدار کلروفیل و شوری‌های با غلظت بالا باعث افزایش کاروتنوئید می‌شود. بیشترین میزان کلروفیل a به رقم کیمیا و کلروفیل b در توده محلی کرمانشاه بیشتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب افزایش بردهای به تنش شوری و کاهش اثرهای مضر کلرید سدیم در گیاه عدس می‌شود.

Cramre (2002) گزارش کرد که کاهش پتابسیم در گیاهان سبب کاهش رشد می‌شود. علت این امر کاهش ظرفیت گیاه برای انجام تنظیم اسمزی و کاهش توانایی حفظ آماس است. کاهش پتابسیم همچنین اثر منفی روی فعالیت‌های متابولیکی مانند ساخته شدن پروتئین دارد. با اعمال محلول‌پاشی توسط اسید سالیسیلیک میزان پتابسیم افزایش یافت. به طوری که کمترین میزان میزان پتابسیم مربوط به محلول‌پاشی با آب م قطر و بیشترین میزان آن به محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک ۰/۵٪ میلی‌مولا ر با میزان ۴/۲ گرم پتابسیم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه تعلق داشت که نسبت به شاهد ۰/۵ گرم بیشتر بود (جدول ۳). به طور کلی تنش شوری از طریق اختلال در مکانیسم جذب پتابسیم توسط ریشه، باعث کاهش غلظت پتابسیم اندام‌های گیاه می‌شود و از آنجایی که پتابسیم به عنوان کوازنیم در فعل کردن بیش از ۴۰ آنژیم دخالت دارد، هر گونه تغییر در غلظت آن اثر قابل توجهی بر رشد و نمو گیاه دارد. از سویی دیگر غلظت زیاد سدیم تحت شرایط تنش شوری از یک طرف مکانیسم جذب پتابسیم را مختل می‌کند و از طرف دیگر با ورود به گیاه اثر منفی بر فعالیت این آنژیم‌ها دارد. میزان کافی پتابسیم در گیاه باعث تنظیم پتانسیل اسمزی و بهبود جذب آب شده و از این طریق یکی از اثرهای تنش شوری یعنی خشکی فیزیولوژیک را تعديل می‌نماید (Cramre, 2002).

نتیجه‌گیری

به طور کلی از نتایج به دست آمده چنین استنباط می‌شود که تأثیر تنش شوری بر فرآیندهای مختلف گیاه متغیر است.

منابع

1. Arnon, D.I. 1949. Copper enzyme in isolated chloroplast and polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology* 24 (1): 15-18.
2. Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2005. Pre sowing seed treatment – A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non saline conditions. *Advances in Agronomy* 88: 223- 265.
3. Ashraf, M., Nazir, N., and Mcneilly, T. 2001. Comparative salt tolerance of amphidiploids and diploid *Brassica* species. *Plant Science* 160: 683-689.
4. Bagheri, A., Goldani, M., and Hasanzadeh, M. 1997. *Agronomy and Breeding of lentil*. Jihad, Mashhad University Press. 248 pp. (In Persian).
5. Borsanio, O., Valpuesta, V., and Botella, M.A. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiology* 126: 1024-1030.
6. Chen, Z., and Gallie, D.R. 2004. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. *The Plant Cell* 16: 1143-1162.
7. Cramre, G.R. 2002. Sodium calcium interactions under salinity stress. In Lauchli, A., Luttage, U. salinity: Environment Plants Molecules. 205-227.

8. Cutt, J.R., and Klessing, D.F. 1992. Salicylic acid in plant. A changing perspective. *Pharmaceutical Technology*. 16: 25-34.
9. Dolatabadian, A., Modares Sanavy, S.A.M., and Chashmi, N.A. 2008. The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid per oxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus L.*) under conditions of salt stress. *Journal Agronomy and Crop Science* 194: 206-213.
10. Doulatabadian, A., Modarres Sanavy, A.M., and Etemadi, F. 2008. Effect of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Triticum aestivum L.*) seed germination under salt stress. *Iranian Journal of Biology* 4: 692-702. (In Persian with English Summary).
11. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-225.
12. Essa, T.A. 2002. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max L. Merrill*) cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science* 188: 86-93.
13. Ghorbanli, M., Adib Hashemi, N., and Peyvandi, M. 2010. Study of salinity and ascorbic acid on some physiological responses of *Nigella sativa L.* *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants* 26: 370-380. (In Persian with English Summary).
14. Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F., and Guzelordu, T. 2005. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays L.*). *Archives of Agronomy and Soil Science* 51: 687-695.
15. Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E.G., and Cicek, N. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays L.*) grown under salinity, *Journal of Plant Physiology* 164: 728-736.
16. Heath, R.L., and Pacher, L. 1969. Photo per oxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid per oxidation. *Arch Biochemical Biophysics* 125: 189-198.
17. Hoagland, D.R., and Arnon, D.I. 1950. The water- culture for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Stat. Circ.* 347: 32.
18. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of praline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiology plants* 84: 55-60.
19. Karlidag, H., Yildirim, E., and Turan, M. 2009. Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. *Science Agriculture* 66 (2): 180- 187.
20. Kaur, S., Gupta, A.K., and Kaur, N. 2000. Effect of GA₃, kinetin and indole acetic water stress. *Plant Growth Regulation* 30: 61-70.
21. Kaya, C., Higgs, D., Ince, F., Amador, B.M., Cakir, A., and Sakar, E. 2003. Ameliorative effects of potassium phosphate on salt stressed pepper and cucumber. *Journal of Plant Nutrition* 26: 807-820.
22. Keshta, M.M., Hammad, K.M., and Sorour, W.A.I. 1999. Evaluation of rape seed genotypes in saline soil. *Proceedings of the 10th International Rape Seed Congress*. Canberra, Australia.
23. Khan, M.A., Ahmad, M.Z., and Hameed, A. 2006. Effect of sea and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments* 67: 535-540.
24. Khan, W., Balakrishnan, P., and Smith, D.L. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylate. *Journal Plant Physiology* 160: 485-492.
25. Levit, J. 1980. Response of plants to environmental stress. Vol II. Water, Radiation, Salt and other stress. Academic Press. U. S. A. New York.
26. Lichtenthder, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio membranes. *Methods in Enzymologist* 147: 350-382.
27. Madan, S., Nainwatee, H.S., Jain, R.K., and Chowdhury, J.B. 1995. Praline and praline metabolism enzymes in invitro selected NaCl tolerant *Brassica juncea* under salt stress. *Annual Botany* 76: 51-57.
28. Majnoonhoseini, N. 1996. Pulses in Iran. Publications of the Institute Publications Jihad. 240 pages.
29. Najafian, Sh., Khoshkhui, M., Tavallali, V., and Saharkjiz, M.J. 2009. Effect of salicylic acid and salinity in Thyme (*Thymus Vulgaris L.*): Investigation on changes in gas exchange, water relations, and membrane stabilization and biomass accumulation. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3 (3): 2620-2626.
30. Noreen, S., and Ashraf, M. 2008. Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus L.*) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis, *Pakistani Journal of Botany* 40: 1657-1663.
31. Paquine, R., and Lechasseur, P. 1979. Observations sur one method dosage la Libra dans les de planets. *Canadian Journal of Botany* 57: 1851-1854.

32. Parida, A., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.
33. Patterson, B., Macrae, E., and Ferguson, I. 1984. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). Annual Biochemical 139: 487-492.
34. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology 43: 439-463.
35. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., and Haloday, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.
36. Senaratna, T., Touchell, D., Bunnm, E., and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. Plant Growth Regulation 30: 157-161.
37. Stevens, J., Senaratna, T., and Sivasithamparam, K. 2006. Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relation and membrane stabilization. Plant Growth Regulation 9: 77-83.
38. Stoeva, N., and Kaymakanova, M. 2008. Effect of salt stress on the growth and photosynthesis rate of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). Central European Agriculture Journal 9 (3): 385-392.
39. Tiwari, J.K., Munshi, A.D., Kumar, R.R., Pandey, N., Arora, A., Bhat, J.S., and Sureja, A. K. 2010. Effects of salt stress on cucumber: Na K ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content. Acted Physiology Plant 32: 103-114.

Physiological responses of Lentil (*Lentil culinaris* Medik) to salinity stress and foliar application salicylic acid

Kayednezami¹, R. & Balouchi^{2*}, H.R.

1- MSc. Student of Agronomy, Agronomy and Plant Breeding Department, Yasouj University

2- Associate Professor of Agronomy and Plant Breeding Department, Yasouj University

Received: 08 December 2012

Accepted: 04 March 2014

Abstract

Among the environmental stresses, salinity is a major limiting factor in world legumes production is considered. In this study, sodium chloride and Salicylic acid interaction on growth parameters were investigated in greenhouse with factorial arrangement in randomized complete block design with three replications. The plant consisted of three cultivars of lentil (Kimiya, Kermanshah and Gachsaran), exposed to different concentrations of sodium chloride (0, 60 and 120 mM NaCl) and solution sprayed by salicylic acid (0, 0.2 and 0.5 mM) were used. In plants only exposed to sodium chloride, with the increase of sodium chloride concentration, chlorophylls, carotenoids and relative water content decreased compared to control while, amount of soluble sugar, electrolyte leakage, MDA, proline and amount of sodium and chloride accumulation increased. In plants exposed to sodium chloride and Salicylic acid, compared with those were only exposed to salinity, in the same concentration of sodium chloride photosynthetic pigments and relative water content were higher, and amount of soluble sugar, electrolyte leakage, MDA, proline and amount of Na accumulation decreased compared to plants only exposed to sodium chloride. The result showed that spray of Salicylic acid (as an antioxidant) caused resistance against salt stress and decreased side effects of sodium chloride in *Lens culinaris* Medik. Kimia variety in foliar application with 0.2 mM salicylic acid and high NaCl levels had the highest relative water content, proline, soluble sugars, chlorophyll and carotenoid.

Keywords: Pulses, Osmotic stress, Orthohydroxybanzoic acid, Soluble sugar, Photosynthesis pigments

*Corresponding Author: balouchi@yu.ac.ir, Tel: 09171892040

تحلیل‌های آماری چند متغیره برای صفات نخود (*Cicer arietinum L.*) در شرایط آبیاری محدود

مریم پیرزاده مقدم^{۱*}، عبدالرضا باقری^۲، سعید ملک زاده شفارودی^۲ و علی گنجعلی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات

۲- اعضای هیأت علمی دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- عضو هیأت علمی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۰۶

چکیده

به منظور مطالعه روابط همبستگی بین صفات زراعی و تحلیل‌های آماری چند متغیره نخود با عملکرد، جهت معرفی صفات مهم و تسهیل در گزینش واریته‌های پر محصول در شرایط آبیاری محدود، تحقیقی بر روی هفت ژنوتیپ برتر از نظر تحمل به خشکی در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۸۹-۱۳۹۰، در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مشهد، به مورد اجرا گذاشته شد. در طی فصل رشد دو نوبت آبیاری انجام شد. اولین آبیاری بعد از کاشت و دیگری در اوخر گله‌ی انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات، اختلاف معنی‌داری در صفات وزن صد دانه، تعداد شاخه‌های اولیه، تعداد دانه در بوته، تیپ رشدی گیاه، شاخص برداشت و عملکرد دانه مشاهده شد ($P \leq 0.05$). بیشترین همبستگی با عملکرد دانه را صفات تیپ رشدی گیاه ($R^2 = 0.44^*$)، عملکرد بیولوژیک ($R^2 = 0.64^*$) و شاخص برداشت ($R^2 = 0.63^*$) نشان دادند. رگرسیون گام به گام، صفات شاخص برداشت، روز تا غلاف‌دهی، تعداد شاخه‌های اولیه و تعداد دانه در بوته را در مرحله‌ی اول و صفات روز تا رسیدگی، تعداد دانه در غلاف، تعداد شاخه‌های ثانویه و عملکرد بیولوژیک را در مرحله‌ی دوم به عنوان صفات مهم نشان داد. همچنین نتایج حاصل از آنالیز علیت نشان داد که صفات شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک و صفت تعداد دانه در بوته، شاخص‌های انتخابی هستند که باید به طور غیر مستقیم، در شرایط کم آبیاری مورد توجه واقع شوند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز، پنج مؤلفه را که بیش از ۷۶ درصد از تغییرات را توجیه می‌نمود، معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه علیت، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، رگرسیون گام به گام

روطوبت بهخصوص در طی دوره رشد زایشی، محدود می‌شود، لذا انجام آبیاری در این مراحل می‌تواند در بهبود عملکرد و نیز ثبات آن مؤثر باشد (Saxena & Singh, 1987). بررسی‌ها نشان می‌دهد که آبیاری تکمیلی از جمله آبیاری به منظور رفع تنفس رطوبت در مرحله بحرانی رشد گیاه شامل اواخر مرحله گله‌ی و مرحله غلاف‌بندی در افزایش عملکرد، تأثیر زیادی داشته است (Saxena, 1984). در حالی‌که، عملکرد نخود یک صفت کمی است و بنابراین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی زیادی بر آن تأثیر می‌گذارد. انتخاب، پایه و اساس افزایش عملکرد در برنامه‌های اصلاحی است و عملکرد دانه می‌تواند بوته وابسته است. اگرچه انتخاب مستقیم عملکرد دانه می‌تواند مفید واقع شود، ولی انتخاب غیر مستقیم عملکرد از طریق صفات وابسته به آن که وراثت‌پذیری بالایی دارند، ممکن است بیشتر مؤثر واقع شوند (Toker, 1998).

روش‌های مختلفی برای تجزیه و تحلیل اجزاء عملکرد وجود دارد که محقق بسته به هدف مطالعه، از بین آن‌ها یکی را

مقدمه

نخود زراعی با نام علمی (*Cicer arietinum L.*), از طایفه سیسرازه، از تیره پروانه آسا (لگومینوزه) است. نخود با میزان پروتئین خام ۱۸ تا ۳۰ درصد وزن خشک (که ۲ تا ۳ برابر پروتئین موجود در غلات می‌باشد) به صورت وسیع در برنامه‌ی غذایی مردم کشورهای جهان سوم گنجانده شده و نقش مهمی در تأمین پروتئین غذای آن‌ها ایفا می‌کند (Eser, 1991). از نظر سطح زیر کشت در جهان، نخود در بین خوبیات در رده سوم قرار دارد، ولی در ایران که یکی از خواستگاه‌های این گیاه به شمار می‌رود، در بین انواع خوبیات در درجه اول اهمیت قرار دارد، به‌طوری که به جز در نواحی مرطوب شمالی در اکثر نقاط کشور کشت می‌گردد (Banaie, 1996). از آنجا که تولید نخود در بیشتر مناطق در اثر کمبود

* نویسنده مسئول: مشهد، بلوار سرافرازان، سرافراز ۱۸/۱ پلاک ۱. کد پستی ۹۱۷۷۱۶۵۳۸۱، mpirzademoghadam@yahoo.com

معرفی مهمترین صفات وابسته به عملکرد دانه، توضیح صفات مورد مطالعه از طریق تجزیه علیت و شناسایی روابط مستقیم و غیرمستقیم مؤثر بر عملکرد، برای تحقیق روابط داخلی بین صفات مورفولوژیک و همچنین تعیین اثرات مستقیم و غیرمستقیم صفات مهم در شرایط آبیاری محدود به اجرا در آمد. صفات منتخب می‌توانند اساس انتخاب بوته در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش عملکرد در این شرایط قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۹-۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. آزمایش به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در زمینی به مساحت ۱۰۰۰ متر مربع اجرا گردید. ژنتیپ‌های تیپ کابلی مورد استفاده در آزمایش، شامل ژنتیپ‌های رایج MCC۲۵۲ (کرج ۳۵۸) و MCC۲۵۲ (۱۲-۶۰-۳۱) و MCC ۵۳۷ (ILC482) و ژنتیپ‌های MCC ۳۵۲ و MCC ۶۹۶ (MCC ۸۰، MCC ۳۹۲) متحمل به خشکی حاصل آزمایش‌های قبلی، از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی Ganjeali *et al.*, 2006 مشهد بودند (Goinipor *et al.*, 2008; Ganjeali *et al.*, 2012). پس از انجام مراحل آماده‌سازی زمین شامل دیسک و لولر، کود پاشی به صورت دستی (شامل کود سوپر فسفات آمونیوم ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار) صورت گرفت. عملیات کشت به صورت دستی و در نیمه اسفند ۱۳۸۹ انجام شد. فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته روی ردیف ۵ تا ۶ سانتی‌متر، فاصله بین دو کرت ۱ متر و ابعاد کرت ۴ × ۳ متر انتخاب شد. دو نوبت آبیاری، آبیاری اوّل پس از کاشت و آبیاری دوم در اوّل‌مرحله گله‌ی انجام شد. عملیات مبارزه با علف‌های هرز ۲ مرتبه و به طور دستی انجام گرفت. مشخصات خاک محل آزمایش (مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی مشهد) در آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشگاه بررسی شد و درصد شن ۳۸٪، ماسه ۴۸٪ و رس ۱۴٪ تعیین گردید. همچنین مقادیر pH برابر با ۷/۴۹ EC ۱/۸۲ بود. با توجه به این مقادیر و استفاده از جدول بافت، خاک از نوع لومنی تشخیص داده شد. یک ماه بعد از کشت از تاریخ ۱۴ فروردین ۱۳۹۰، یاداشت برداری صفات شروع شد و در مجموع ۱۷ صفت مهم زراعی شامل: ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، تیپ رشدی گیاه، تعداد شاخه‌های اولیه و ثانویه، ارتفاع اولین غلاف (سانتی‌متر)، تعداد غلاف در بوته، تعداد کل غلاف‌های چند بدتری و پوک، تعداد دانه در غلاف، تعداد دانه در بوته، وزن صد دانه (گم)، عملکرد سولزیک (گم در مت مربع)، عملکرد دانه

انتخاب می‌کند. از بین روش‌های استفاده شده می‌توان به همبستگی ساده، رگرسیون گام به گام و تجزیه ضرایب مسیر برای تجزیه و تحلیل اجزای عملکرد اشاره کرد. هدف در بررسی تجزیه علیت، تشریح روابط بین اجزای عملکرد با عملکرد است. تجزیه علیت اثرات مستقیم و غیرمستقیم صفات روی عملکرد را مشخص می‌سازد و این مسئله به اصلاح‌گر در انتخاب صفات و اولویت‌بندی آن‌ها کمک می‌کند (Auckland & Van de Maesen, 1980). استفاده از تجزیه به عامل‌ها در ژنتیک‌های لوپیا سفید نشان داد که سه عامل مستقل شامل عامل عملکرد، خصوصیات بذر و خصوصیات فنولوژیکی مجموعاً ۸۲ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه کردند (Ebrahimi et al., 2008) همچنین به منظور بررسی روابط بین عملکرد دانه و اجزای عملکرد و تعیین مهمترین صفات مؤثر بر عملکرد دانه، ۱۱ رقم و لاین امید بخش عدس و یک ژنتیک از توده محلی اردبیل مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج تجزیه علیت صفات نشان داد که صفات تعداد غلاف پر در بوته و وزن صد دانه بیشترین اثرات مثبت و مستقیم را بر عملکرد دانه داشتند. شاخص برداشت و عملکرد بیولوژیک اثرات مستقیم و مثبت کمی روی عملکرد داشتند. اثر مستقیم تعداد کل غلاف در بوته، تعداد شاخه‌های جانبی در بوته و تعداد روز تا رسیدگی بر روی عملکرد منفی بود (Azizi Charkhchaman et al., 2009).

شاخص‌های انتخاب در نخود با استفاده از ضرایب همبستگی و تجزیه علیت در طی آزمایش‌های دو ساله ارزیابی شد. نتایج تجزیه علیت نشان داد که صفات عملکرد بیولوژیک ($P = 0.65$) و تعداد دانه در غلاف ($P = 0.14$)، بیشترین اثرات مستقیم و مثبت را در عملکرد دانه دارند. صفات وزن صد دانه، تعداد دانه در گیاه، تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته، ارتفاع گیاه و تعداد شاخه اولیه اثرات مستقیم و مثبت کمی بر عملکرد ایجاد می‌کنند (Amjad Ali et al., 2009).

مطالعه ۲۱ لاین موتانت اصلاح شده نخود نشان داد که حداقل اثرات مثبت و مستقیم بر روی عملکرد را تعداد دانه در گیاه با ضریب ($P = 0.03$) و به دنبال آن وزن صد دانه با ضریب ($P = 0.78$) داراست (Hassan et al., 2005).

ضریب همبستگی بین عملکرد و اجزای عملکرد و اثرات مستقیم و غیر مستقیم آن‌ها در گیاهان دیگر نظری دال عدس، باقلاء و ماشک (Padi, 2003; Ulukan et al., 2003; Yucel, 2004).

در این آزمایش به بررسی صفات مؤثر بر عملکرد نخود در شرایط آبیاری محدود پرداخته شد. بر همین اساس، با استفاده از ژنتیک پهپادی امید بخش تیپ کابلی که قبلاً عکس العمل خوبی در شرایط تنفس خشکی نشان داده‌اند، با هدف شناسایی و

میانگین‌ها به روش آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ۵٪ انجام گرفت و نتایج آن در جدول ۲ نشان داده شد. نتایج مربوط به عملکرد دانه، برتری ژنتیک‌های MCC ۶۹۶ و MCC ۲۵۲ را نسبت به سایر ژنتیک‌ها نشان داد و ژنتیک MCC ۵۳۷ کمترین عملکرد دانه را نشان داد. به جز ژنتیک‌های MCC ۲۵۲ و MCC ۳۵۸، تحمل به خشکی سایر ژنتیک‌ها در آزمایش‌های قبلی تأیید شده است. از آنجا که ارقام رایج توانسته‌اند عملکرد مناسبی ایجاد کنند، بنابراین این شیوه آبیاری (آبیاری محدود در مرحله گلدهی) در مناطق کم آب قابل توصیه می‌باشد. ژنتیک‌ها از نظر عملکرد بیولوژیک تفاوتی نشان ندادند و بیشترین شاخص برداشت را بهترین ژنتیک‌های MCC ۶۹۶، MCC ۲۵۲ و MCC ۳۵۸ داشتند. این مطلب نشان‌دهنده تولید دانه زیاد در این ژنتیک‌ها است. بنابراین احتمال دارد بتوان از این ژنتیک‌ها در تلاقي بهمنظور ارتقای حاکی از آن است که عملکرد دانه بهره‌مند شد. نتایج همبستگی را با عملکرد بیولوژیک به میزان ۰/۶۴** دارد و بعد از آن شاخص برداشت با ضریب ۰/۶۳** همبستگی معنی‌داری با عملکرد نشان داد. شاخص برداشت، بیانگر درصد انتقال مواد آلی از منبع به مخزن می‌باشد. وجود این همبستگی‌های بالا نشان می‌دهد گیاه نخود از طریق افزایش رشد رویشی بیشتر توانسته است، عملکرد دانه را بالا ببرد. ارقامی که دارای شاخص برداشت بالاتری هستند، قادرند کربوهیدرات‌های بیشتری را از اندام‌های سبز به منبع (دانه) برسانند و موجب افزایش عملکرد شوند، لذا ارقامی که شاخص برداشت کمتری دارند، کربوهیدرات‌کمتری را به دانه انتقال می‌دهند و از این رو عملکرد دانه کمتری را در این ژنتیک‌ها می‌توان انتظار داشت (Bakhtar, 2009). صفات تعداد شاخه اولیه ($r = -0/41^*$) و ارتفاع گیاه ($r = -0/26$) با عملکرد دانه همبستگی منفی نشان دادند. صفات تیپ رشدی گیاه ($r = 0/44^*$), تعداد دانه در بوته ($r = 0/37^*$), روز تا غلاف‌دهی ($r = 0/35^*$) و روز تا رسیدگی ($r = 0/27^*$) نیز صفاتی بودند که همبستگی مشتبی با عملکرد دانه نشان دادند. همبستگی‌ها بین روز تا غلاف‌دهی و روز تا رسیدگی احتمالاً از طریق تأثیر بر عملکرد بیولوژیک توانسته‌اند بر روی عملکرد دانه تأثیرگذار باشند (جدول ۳). در اولین مرحله، برای انجام رگرسیون گام به گام تمامی صفات به جز صفت عملکرد بیولوژیک، به عنوان متغیرهای مستقل وارد معادله شدند. عملکرد دانه نیز به عنوان متغیر وابسته وارد معادله شد. با استفاده از داده‌های موجود رگرسیون گام به گام میان عملکرد دانه به عنوان صفت وابسته و سایر صفات به عنوان صفات مستقل

(گرم در متر مربع) و شاخص برداشت با استفاده از معیارهای دیسکریپتور نخود مورد ارزیابی قرار گرفتند (IBDGR, 1993). مراحل فنولوژیک با ثبت تاریخ دقیق روز و ماه در کرت‌ها صورت گرفت. تاریخ گلدهی روزی منظور شد که ۵۰ درصد بوته‌ها در چهار ردیف وسط هر کرت، حداقل یک گل باز شده داشته باشد و رسیدگی روزی لحاظ گردید که غالب بوته‌های موجود در هر کرت، آماده برداشت شده باشند. یادداشت برداری این صفات در طی فصل رشد با شمارش بوته‌ها و مشاهده کلی کرت هر هفت روز یکبار انجام شد. ارتفاع بوته با استفاده از خطکش از سطح خاک اندازه‌گیری شد. تیپ رشدی گیاه به صورت چشمی و بر اساس زاویه‌ای که گیاه با افق می‌سازد، بهترینی که تیپ ایستاده ۷۵-۹۰ درجه، تیپ نیمه‌ایستاده ۲۶-۷۴ درجه و تیپ خوابیده با زاویه ۰-۲۵ درجه مشخص شدند. اندازه‌گیری صفات با انتخاب ۷ نمونه به صورت تصادفی از هر کرت قبل از رسیدن کامل و قبل از خشک شدن بوته‌ها صورت گرفت. اطلاعات هواشناسی منطقه شامل: میانگین داده‌های اقلیمی (شامل حداقل، حداقل و میانگین درجه حرارت ماهیانه و میانگین بارندگی ماهیانه) در طی مدت آزمایش دقیقاً با میانگین‌گیری از داده‌های روزانه اخذ شده از ایستگاه هواشناسی مشهد آماده شد. اطلاعات روزانه در محدوده زمانی مهرماه تا شهریور سال زراعی ثبت شد. بر اساس داده‌های هواشناسی، گیاهان در فاصله کاشت تا سبز شدن در معرض دماهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد قرار نگرفتند. مجموع میزان بارندگی در طی دوره کاشت تا برداشت ۴۵ میلی‌متر بود. بیشترین دمای روزانه در خرداد ماه و کمترین میزان بارش نیز به این ماه تعلق داشت که مصادف با زمان گلدهی و غلاف‌دهی گیاه بود و یک مرتبه آبیاری در اواخر گلدهی انجام شد. تجزیه واریانس برای صفت‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C (ver 1.4.0) انجام شد. برای انجام محاسبات رگرسیون گام به گام، تجزیه علیت، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار JMP VERSION 4. SOFTWARE (SAS institute Inc) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس برای صفات وزن صد دانه، تعداد دانه در غلاف، تعداد شاخه اولیه، تیپ رشدی گیاه، عملکرد دانه و شاخص برداشت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بودند، که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین ژنتیک‌های مورد بررسی بود. نتایج تجزیه واریانس و نتایج توصیفی صفات در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، ژنتیک‌ها از نظر عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری داشتند. مقایسه آماری

ثانویه، X_7 روز تا رسیدگی و X_8 عملکرد بیولوژیک است ($P \leq 0.01$).

نتایج تجزیه علیت نشان داد که صفات عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت اثرات مستقیم و مثبت بسیار بالایی بر عملکرد دانه دارند. از آنجایی که ممکن است در بررسی و مقایسه ضرایب علیت و تفسیر اثرات مستقیم و غیرمستقیم به اشتباه مسیرهایی را که هیچ وجه عینی و واقعی در گیاه ندارند، در نظر گرفته شود، لذا در تجزیه علیت ۸ صفت انتخابی نهایی، تنها با روابط قابل پذیرش بیان شدند. رابطه‌ای که در آن یک صفت مؤخر از طریق یک صفت اولیه بر عملکرد تأثیر می‌گذارد، یک رابطه‌ای غیر قابل پذیرش است. مثلاً نمی‌توان گفت صفت تعداد دانه در غلاف از غلاف تعداد شاخه‌ی اولیه بر عملکرد تأثیر می‌گذارد، گرچه عکس آن منطقی است. در جدول ۴ اثرات صفاتی که در مرحله دوم رگرسیون با در نظر گرفتن صفات اصلی به عنوان متغیر وابسته انتخاب شده‌اند، نشان داده شد. اثرات مستقیم و غیرمستقیم واقعی نمایش داده شده و از آوردن ضرایبی که واقعی نیستند، اجتناب گردید (جدول ۴). این نتایج نشان داد همبستگی بین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک ($P = 0.064^{***}$) تقریباً برابر با اثرات مستقیم این صفت ($P = 0.067^{**}$) است. این نتیجه نشان دهنده رابطه واقعی این صفت بر عملکرد دانه است و نشان می‌دهد گرینش مستقیم از طریق این صفت می‌تواند مؤثر واقع شود. اثر غیرمستقیم این صفت بر صفات دیگر به جز شاخص برداشت نمی‌تواند واقعی باشد زیرا این صفت یک صفت مؤخر است، این در حالی است که سایر صفات می‌توانند بر این صفت تأثیرگذار باشند (جدول ۴). ضریب همبستگی بین شاخص برداشت و عملکرد دانه ($P = 0.063^{***}$) برابر اثر مستقیم این صفت بر عملکرد دانه ($P = 0.063^{***}$) است. صفات تعداد دانه در بوته و تعداد شاخه در بوته اثرات غیر مستقیم و مثبت و روز تا غلاف دهی اثر غیر مستقیم و منفی بر این صفت دارند. نتایج آزمایش نشان داد، صفت تعداد دانه در بوته دارای همبستگی مثبت معنی‌داری با عملکرد دانه است ($P = 0.037^*$)، ولی اثر مستقیم آن معنی‌دار نیست ($P = 0.115$). بنابراین گزینش عوامل غیر مستقیم آن علاوه بر انتخاب مستقیم صفت در شرایط آبیاری کم، می‌تواند مؤثر واقع شود. بهترین عوامل غیر مستقیم، صفت تعداد شاخه‌ای ثانویه و تعداد دانه در غلاف است. نتایج مرحله اول رگرسیون، اثر مستقیم این صفت را معنی‌دار و اثرات صفات شاخص برداشت و روز تا غلاف دهی را غیر مستقیم و مثبت نشان داد. اثر صفت تعداد شاخه اولیه بر آن نیز منفی بود. صفات روز تا غلاف دهی و روز تا رسیدگی به ترتیب همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد به میزان 0.035^* و 0.027^* ($P \leq 0.01$)

انجام شد. مطابق روش برگشتی چهار صفت روز تا غلاف دهی، شاخص برداشت، تعداد دانه در بوته و تعداد شاخه‌های اولیه به عنوان متغیرهای اصلی تشکیل‌دهنده مدل برای متغیر وابسته بوده است ($R^2_{adj} = 0.57$). این موضوع نشان می‌دهد که ۵۷٪ از تغییرات عملکرد دانه به وسیله‌ی تغییرات در میزان شاخه‌های اولیه در کنار هم قابل بیان و پیش‌بینی است.

$$y = -27.00 - 3.01x_1 + 3.33x_2 + 4.11x_3 + 3.99x_4$$

معادله (۱)

در این معادله X_1 صفت تعداد شاخه‌های اولیه، X_2 صفت تعداد دانه در بوته، X_3 روز تا غلاف دهی و X_4 شاخص برداشت است ($P \leq 0.01$).

نتایج حاصل از تجزیه علیت با صفات منتخب از مرحله اول رگرسیون گام به گام که در آن عملکرد بیولوژیک وارد نشده، نشان داد که بعد از صفت شاخص برداشت، تعداد شاخه‌ی اولیه، صفات روز تا غلاف دهی و تعداد دانه در بوته مهمترین صفاتی است که در شرایط کم آبیاری رابطه مستقیم، مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه نشان دادند ($P \leq 0.05$). البته همانطور که قبل این شد این رابطه تنها ۵۷ درصد تغییرات را توضیح داده است و در مرحله دوم رگرسیون صفات مهم دیگر هم بررسی شد. به دلیل کم بودن میزان توجیه‌کنندگی متغیر وابسته، سه مدل رگرسیونی دیگر که در آن‌ها صفات منتخب به عنوان متغیر وابسته بودند، با استفاده از داده‌های استاندارد شده ترسیم شد تا اثرات مستقیم سایر متغیرها بر این صفات مشخص شود. در نتیجه‌ی این بررسی ۴ صفت دیگر نیز انتخاب شدند. با توجه به اهمیت صفات وارد شده در معادله رگرسیونی در مرحله بعد با استفاده از روش تجزیه علیت اثرات مستقیم و غیر مستقیم این صفات بررسی شد. با وارد شدن ۸ صفت انتخابی در مرحله دوم رگرسیون، معادله ۲ شکل گرفت. این معادله با $R^2_{adj} = 0.96$ به خوبی توانست تغییرات عملکرد دانه را به میزان ۹۶ درصد توجیه نماید.

$$y = -0.0184 - 0.0586x_1 - 0.0575x_2 - 0.1538x_3 - 0.0543x_4 + 0.0693x_5 - 0.0019x_6 + 0.6750x_7 + 0.6333x_8$$

معادله (۲)

که در این معادله X_1 صفت تعداد شاخه‌های اولیه، X_2 صفت تعداد دانه در بوته، X_3 روز تا غلاف دهی، X_4 شاخص برداشت است، X_5 تعداد دانه در غلاف، X_6 تعداد شاخه

Dasgupta *et al.*, 1989; Rao & Srivastava, 1992) چنانچه صفات متفاوتی را به عنوان بهترین صفت در نخود ذکر نمودند. این امر نشان‌دهنده اهمیت آزمایش‌های منطقه‌ای است و نشان می‌دهد اصلاح صفات هر گیاه زراعی باید متناسب با شرایط هر منطقه صورت گیرد.

ایجاد کرده‌اند، در صورتی که اثرات مستقیم آن‌ها ناچیز است. ظاهرً اثرات غیرمستقیم صفات سبب این همبستگی‌ها هستند. نتایج حاصل از تجزیه علیت توسط محققان دیگر متفاوت است، که دلیل احتمالی آن متفاوت بودن شرایط آزمایش و ژنتیک‌های مورد استفاده بوده است (Singh *et al.*, 1995;

جدول ۱- نتایج توصیفی تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در کشت بهاره نخود در شرایط کم آبیاری
Table 1. Results of analysis variance characterization of Chickpea in low irrigated conditions

میانگین مربعات Mean square	میانگین ± معیار mean ± SD	دامنه تغییرات Variations	صفات trait
**87.12	25.38 ± 4.97	18.37 – 37.47	وزن صد دانه (گرم) (SW)
4.61	23.21 ± 3.39	17.14 – 29.57	ارتفاع گیاه (سانسی متر) (PH)
57.10	17.73 ± 6.46	6.14 – 27.86	مجموع غلاف در بوته (TPP)
4.31	4.07 ± 1.87	1.85 – 8.00	تعداد غلاف‌های پوک (NEP)
2.82	4.27 ± 2.10	0.42 – 6.42	تعداد غلاف‌های چندبذری (MSP)
2.62	10.94 ± 2.28	6.10 – 16.30	ارتفاع اولین غلاف (سانسی‌متر) (FPH)
**2.05	3.95 ± 0.83	2.28 – 5.85	تعداد شاخه‌های اولیه (PB)
4.77	7.83 ± 2.46	2.85 – 13.57	تعداد شاخه‌های ثانویه (SB)
73.28	18.19 ± 7.17	4.29 – 29.29	تعداد دانه در بوته (SN)
**0.05	1.01 ± 0.10	0.69 – 1.17	تعداد دانه در غلاف (SNP)
**1.35	1.78 ± 0.62	1.00 – 3.00	تیپ رشدی گیاه (TPG)
57.33	75.00 ± 6.22	65.00 – 88.00	تعداد روز تا گلدهی (DF)
54.33	82.25 ± 6.14	75.00 – 96.00	تعداد روز تا غلاف دهی (DP)
56.86	100.78 ± 6.25	90.00 – 114.00	تعداد روز تا رسیدگی (DM)

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

* and **, respectively, significant at the 5 and 1 percent.

BY= Biological yield, DF= Days to flowering, DM= Days to maturity, DP= Days to pod formation, FPH= Height of the first pod, HI= Harvest index, MSP= Multiple seed pods, NEP= Number of empty pod, PB= Number of primary branches, PH= Plant height, SB= The number of secondary branches, SN= Seeds Number per plant, SNP= Seeds Number per pod, SW= Seed weight, SY= Seed Yield, TPG= Type of plant growth, TPP= Total pods per plant.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین ژنتیک‌ها در کشت نخود در شرایط آبیاری محدود

Table 2. Results mean comparison in Chickpea genotypes grown under low irrigation

شماره ژنتیک No genotype	عملکرد دانه (گرم بر متر مربع) Yield (grams per square meter)	عملکرد بیولوژیک (گرم بر متر مربع) Biological yield (grams per square meter)	شاخص برداشت (درصد) HI (percent)
MCC 80	23.47 b	57.00 b	41.09 ab
MCC 252	25.16 ab	58.93b	46.01 a
MCC 352	23.21 b	69.41 ab	34.88 abc
MCC 358	21.69 b	82.49 ab	27.33 cd
MCC 392	19.81 bc	65.70 ab	31.15 bc
MCC 537	13.44 c	70.65 ab	20.00 d
MCC 696	30.85 a	90.84 a	36.32 abc

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بین ژنتیک‌ها، مطابق آزمون دانکن است ($P \leq 0.5$).

Dissimilar letters indicate significant difference between genotypes, is according to Duncan's test ($P \leq 0.5$).

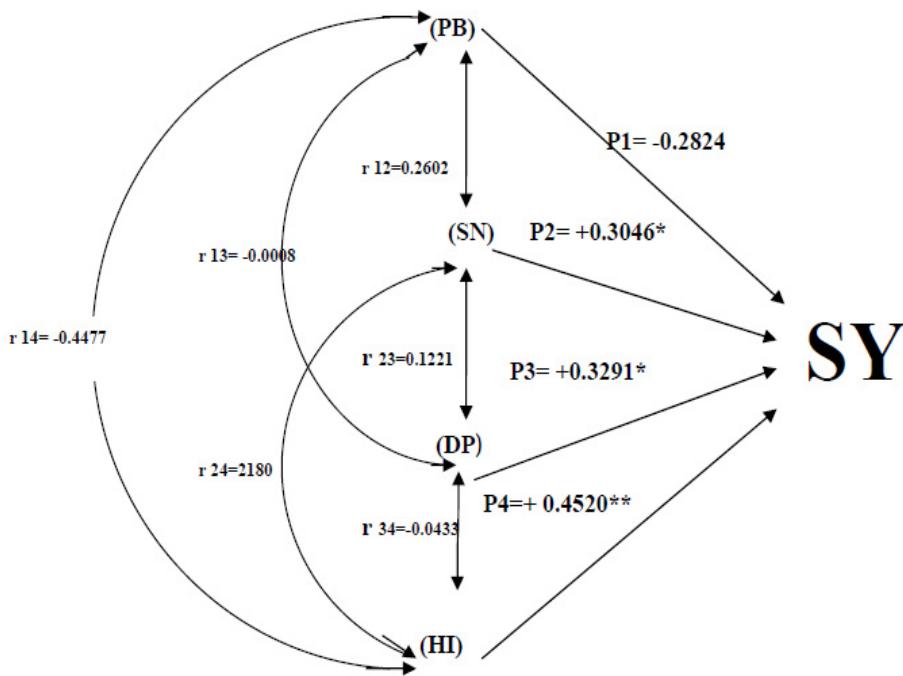
Table 3 . Table of correlation coefficients between yield traits in chickpea in irrigated conditions.

صفات <i>trait</i>	SW	PH	TPP	NEP	MSP	FPH	PB	SB	SN	SNP	TPG	DF	DP	DM	SY	BY	HI
SW	1.00	0.12	0.34	0.30	0.06	-0.06	-0.30	-0.08	-0.30	0.00	0.01	0.00	-0.09	-0.12	0.12	0.22	-0.01
PH	1.00	-0.01	0.06	0.17	0.36*	0.08	-0.14	-0.19	0.26	-0.01	0.24	0.06	0.25	-0.26	0.12	-0.41*	
TPP	1.00	0.76**	0.79**	-0.21	-0.04	-0.09	-0.25	-0.04	0.37*	-0.04	-0.02	0.00	-0.15	-0.10	-0.04		
NEP	1.00	0.66**	-0.01	0.00	-0.12	-0.13	0.19	0.42*	-0.07	-0.08	-0.11	-0.07	-0.03	-0.01			
MSP	1.00	-0.04	0.11	-0.10	-0.20	0.09	0.38*	0.09	0.10	0.20	-0.24	-0.02	-0.24	-0.02	-0.28		
FPH	1.00	-0.14	-0.01	0.08	0.20	-0.27	0.24	0.14	0.22	-0.2	-0.17	0.06					
PB	1.00	0.40*	0.26	-0.02	0.35*	0.11	-0.01	0.14	-0.41*	-0.10	-0.45*						
SB	1.00	0.53*	0.26	-0.02	0.35*	0.11	-0.06	0.06	-0.01	0.08	-0.09						
SN	1.00	0.50*	0.04	-0.11	-0.06	-0.09	0.06	0.14	-0.41*	-0.10	-0.45*						
SNP	1.00	0.50*	0.01	0.06	0.12	0.12	0.37*	0.19	0.22								
TPG	1.00	0.14	0.40*	0.38*	0.25	15.0	0.37*	-0.23									
DF	1.00	-0.11	-0.21	-0.23	0.44*	-0.20	-0.38*										
DP	1.00	0.90**	0.88**	0.18	0.45*	-0.28											
DM	1.00	0.90**	0.35*	0.43*	-0.04												
SY	1.00	0.27*	0.44*	-0.14													
BY	1.00	0.64**	0.63**														
HI	1.00	-0.15															

* و ** معنی تاری در سطح ۱ و ۵ درصد است.

Marked * and ** significant at 1 and 5 percent.

BY= Biological yield, DF= Days to flowering, DM= Days to maturity, DP= Days to pod formation, FPH= Height of the first pod, HI= Harvest index, MSP= Multiple seed pods, NEP= Number of empty pod, PB= Number of primary branches, PH= Plant height, SB= The number of secondary branches, SN= Seeds Number per plant, SNP= Seeds Number per pod, SW= Seed weight, SY=



شکل ۱- دیاگرام تجزیه علیت برای صفات اصلی، * و ** به ترتیب نشانه معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد است و سایر روابط معنی‌دار نبود.
باقیمانده به میزان ۶۰٪ بود.

Fig. 1. Diagram of path analysis for main characters, Marked * and ** respectively indicate significance at 5 and 1%, Other relationships were not significant. The remnant was 0.60

DP= Days to pod formation, HI= Harvest index, PB= Number of primary branches, SN= Seeds Number per plant, SY= Seed Yield,

جدول ۴- تجزیه اثرات منتخب در مرحله دوم رگرسیون با در نظر گرفتن صفات اصلی به عنوان متغیر وابسته

Table 4. Analysis in the second stage of selected effects regression with regard the main characters as the dependent variable

Trait	PB	SN	DP	HI	SNP	SB	DM	BY
PB	-0.0612	na	na	na	na	na	na	na
SN	+0.0415	+0.1559	0+0.0415	na	+0.0798	+0.0322	na	na
DP	-0.0005	na	+0.0693	na	na	+0.0241	na	na
HI	-0.2835	+0.1380	+0.0274	+0.6333	-0.1380	+0.3999	na	-0.0956
SNP	-0.0001	na	+0.0206	na	+0.0543	+0.0082	na	na
SB	-0.0244	na	na	na	na	+0.0599	na	na
DM	+0.0001	na	-0.0017	na	na	na	-0.0019	na
BY	-0.0677	-0.0067	+0.2326	na	+0.2499	+0.4334	+0.2967	+0.6750**

علامت ** معنی‌داری در سطح ۱ درصد است و سایر اثرات معنی‌دار نیستند. اسامی صفات در جدول ۱ آورده شد. اعداد روی قطر اصلی اثرات مستقیم و سایر اعداد اثرات غیر

مستقیم را نشان می‌دهند. اثرات غیر مستقیم که رابطه قابل پذیرش واقعی ندارند با (na = non admissible) مشخص شده‌اند (R² = ۰/۲۳).

marked ** are Significant at 1% level and other effects are not significant, meaning. Characters names were given in Table 1. Numbers on the main diagonal of direct effects and indirect effects of other numbers they represent. Indirect effects are real and not an acceptable relationship have been identified with (na = non admissible). (R² = 0.23).

BY= Biological yield, DM= Days to maturity, DP= Days to pod formation, FPH= Height of the first pod, HI= Harvest index, PB= Number of primary branches, SN= Seeds Number per plant, SNP= Seeds Number per pod,

منجر به معرفی ۵ مؤلفه اصلی با میزان توجیه کنندگی ۷۶/۴۴٪ از تنوع کل داده‌ها گردید. در این تجزیه درصد توجیه کنندگی

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از ماتریس ضرایب همبستگی متغیرهای کمی و کیفی با توجه به مقادیر ویژه بزرگتر از واحد،

دانه تأیید می‌کند. از آنجا که درصد توجیه‌کنندگی این مؤلفه پایین است، می‌توان نتیجه گرفت صفات مورد بررسی هم راستایی زیادی ندارند و لازم است، هر یک از متغیرها به دقت مورد بررسی قرار گیرند. این امر نشان می‌دهد که روش‌های دیگر بررسی همبستگی‌ها مانند تجزیه علیت شایستگی صفات را بهتر نشان می‌دهد. دو مین مؤلفه یا فاکتور که ۲۱/۳۱ درصد تغییرات را توجیه کرد، صفات مربوط به طول مدت رشد در نخود یعنی روز تا گله‌ی، روز تا غلاف‌دهی و روز تا رسیدگی بودند. مطابق آنچه در همبستگی ساده به دست آمد (این سه صفت همبستگی معنی دار داشتند، $P \leq 0.01$). در اینجا نیز در یک فاکتور که مدت رشد نامیده شد، قرار گرفتند. فاکتور سوم صفات عملکرد دانه و شاخص برداشت را در یک مؤلفه قرار داده که با نام عملکرد اقتصادی مشخص شد.

عوامل اول تا پنجم به ترتیب برابر ۹/۵، ۱۴/۸۸، ۲۱/۳۱، ۲۲/۷۷ و ۷/۹ درصد به دست آمد. هرچه درصد توجیه‌کنندگی واریانس عامل مستقلی بیشتر باشد، به اعتبار آن عامل در تفسیر تغییرات کل داده‌ها افزوده می‌شود. در این تحقیق پنج مؤلفه اول که بیش از ۷۶ درصد واریانس داده‌ها را توجیه کرد، انتخاب گردید. عامل اول ۲۲/۷۷ درصد از واریانس کل را توجیه کرد است و بزرگترین ضرایب عاملی آن مربوط به صفات تعداد دانه در گیاه، تعداد غلاف در گیاه و تعداد غلاف‌های ۲ یا ۳ بذری می‌شود. افزایش عملکرد از طریق این سه صفت امکان‌پذیر است و لذا هر یک از این صفات و یا مجموعه آن‌ها می‌توانند به عنوان معیارهای گزینش تلقی گردند. این عامل که نشان‌دهنده‌ی همبستگی بالای این صفات با عملکرد است، عامل عملکرد نامیده شد. نتایج همبستگی ساده بین صفات، وجود همبستگی مثبت و بالایی را بین این صفات و عملکرد

جدول ۵- مقادیر ویژه، درصد واریانس‌ها و ضرایب بردارهای ویژه مربوط به صفات مورد مطالعه در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

Table 5. Eigenvalues, percentage of variance and coefficients of eigenvalues of traits in principal component analysis

فакتور پنجم	فاکتور چهارم	فاکتور سوم	فاکتور دوم	فاکتور اول	صفت
عامل رشد بیولوژیک fifth factor biological growth	تعداد شاخه fourth factor number of branches	عملکرد اقتصادی third factor economic Yield	مدت رشد The second factor for growth	عامل عملکرد first factor Yield	trait
1.355	1.615	2.530	3.662	3.872	میزان فاکتور Rate factor
7.972	9.500	14.884	21.311	22.778	درصد توجیه‌کنندگی Dr. of Tugyeh-Kendegi
76.447	68.476	58.974	44.089	22.778	Percent Explanation درصد توجیه‌کنندگی افزایشی Percent Increase Explanation
0.463	-0.068	0.291	-0.084	0.109	SW
0.538	-0.303	-0.173	0.114	0.156	PH
-0.114	0.015	0.217	-0.208	0.412	TPP
0.052	-0.031	0.252	-0.209	0.304	NEP
-0.093	-0.012	0.054	-0.098	0.452	MSP
0.046	-0.503	-0.075	0.164	-0.037	FPH
-0.035	0.352	-0.415	0.018	0.111	PB
-0.001	0.484	-0.180	0.003	-0.035	SB
-0.121	0.027	0.147	-0.160	0.449	SN
-0.102	0.119	-0.265	0.036	0.315	SNP
-0.298	-0.308	-0.083	0.276	0.097	TPG
0.030	0.000	0.028	0.456	0.175	DF
-0.187	0.021	0.122	0.460	0.146	DP
-0.097	0.063	0.028	0.458	0.193	DM
-0.016	0.205	0.483	0.195	0.169	SY
0.403	0.358	0.259	0.280	0.020	BY
-0.382	-0.068	0.378	-0.064	-0.225	HI

اعدادی که زیر آنها خط کشیده شده، از اهمیت بیشتری در مؤلفه برخوردارند.

Underlying the numbers, there are more important factors.

BY= Biological yield, DF= Days to flowering, DM= Days to maturity, DP= Days to pod formation, FPH= Height of the first pod, HI= Harvest index, MSP= Multiple seed pods, NEP= Number of empty pod, PB= Number of primary branches, PH= Plant height, SB= The number of secondary branches, SN= Seeds Number per plant, SNP= Seeds Number per pod, SW= Seed weight, SY= Seed Yield, TPG= Type of plant growth, TPP= Total pods per plant.

صفاتی که بهطور غیر مستقیم بر آن تأثیر گذارند، که شامل صفات تعداد دانه در غلاف و تعداد شاخه‌ی ثانویه است. گرچه در آزمایشات صورت گرفته برای تعیین مهمترین صفات زراعی در شرایط مختلف، صفات متفاوتی مشخص شده است، اما نتیجه‌ی این مطالعات نشان داد، صفت تعداد دانه و وزن دانه از مهمترین صفات انتخابی بودند. در شرایط کم آبیاری یا دیم صفت تعداد دانه و در شرایط آبیاری کامل صفت وزن دانه تأثیرات قابل توجهی در عملکرد دانه ایجاد نمودند. این امر نشان می‌دهد، انتخاب ژنتیک‌های با عملکرد دانه و شاخص برداشت بالا از طریق انتخاب بر اساس تعداد دانه در شرایط کم آبیاری، می‌تواند مؤثر واقع شود. یافتن صفاتی که با صفت تعداد دانه در بوته لینکار داشته باشد و قابل تشخیص در مراحل اولیه اصلاح گیاه باشد، می‌تواند به این انتخاب کمک شایانی کند. انتظار می‌رود توجه به این صفات و انتخاب برای آن‌ها عملکرد بذر تک بوته را به نحو مطلوبی افزایش دهد.

نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تعداد شاخه‌های اولیه و ثانویه را در فاکتور چهارم قرار داد که این عامل به نام تعداد شاخه نامگذاری شد و صفات مهمی چون عملکرد بیولوژیک و ارتفاع بوته نیز در فاکتور پنجم با نام عامل رشد بیولوژیک دسته‌بندی شد. نتایج کلی بهدست آمده در جدول ۵ آورده شد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی صفات تعداد دانه در بوته، روز تا غلاف‌دهی، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت به‌طور مستقیم اثرات مثبت و معنی‌داری در عملکرد دانه داشتند و چهار جزء اولیه مؤلفه اصلی عملکرد می‌باشند. که از بین آن‌ها صفت تعداد دانه مهمترین جزء بوده و باید در برنامه‌های بهنژادی مورد استفاده قرار گیرد. در واقع صفاتی که بتوانند بیشترین تأثیر را بر عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت داشته باشد، به عنوان بهترین صفات اصلاحی باید مورد توجه قرار گیرند. این صفات عبارتند از صفت تعداد دانه و

منابع

1. Amjad Ali, M., Nawab, N., Abbas, A., Zulkiffal, M., and Sajjad, M. 2009. Evaluation of selection criteria in (*Cicer arietinum* L). Using correlation coefficients and path analysis. Australian Journal of Crop Science 3: 65-70. (In Persian with English Summary)
2. Auckland, A.K. and Van de Maesen, L.J.G. 1980. Hybridization of crop plants. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 249-259
3. Azizi Charkhchaman, SH., Mostafaei, H., Hassan Panah, D., Kazemi Arbt, H., and Yarbna, M., 2009. Path analysis of yield components and grain yield promising lentils in dry conditions. Journal of New Agricultural Sciences 5: 45-56. (In Persian).
4. Bakhtar, R. 2009. Effect of planting date and plant density on yield and yield components of rainfed lentil in Ardabil region. Kashnasy senior thesis. Markazy University. (In Persian).
5. Banaie, T., From planting to harvesting peas. Researchs, Education and Agricultural Extension Publishers. (In Persian).
6. Dasgupta, T., Slam, S. and Gayen, P. 1992. Genetic variability and analysis of yield components in chickpea. Annals of Agricultural Research 132: 157-160.
7. Ebrahimi, M., Bihamta, M.R., Hosseinzadeh, A. H., Golbashy, M., and Khiyalparast, F. 2008. Agronomic characteristics of white bean genotypes by analysis of several variables. Journal of Crop Improvement 1: 1-13. (In Persian).
8. Eser, D., Gecit, H.H. and Emeklier, H.Y. 1991. Evaluation of germplasm of chickpea landraces in Turkey. Chickpea News. 24: 22-23.
9. Farshadfar, A. 2001. Multivariate Statistical Techniques. Tagh Bostan Publishers. (In Persian).
10. Farsi, M. 2008. Pilot Projects in Agricultural Science. Mashhad University Jihad Publishers. (In Persian).
11. Ganjeali, A., Prsa, H., and Bagheri, A.R. 2011. Reaction yield and morphological characteristics of early peas genotype (*cicer aruatinum* L) to drought stress. Iranian Journal of Pulses Rrserch 2 (1): 65-80. (In Persian).
12. Ganjeali, A., Joainnepor, M., Bagheri, A.R., and Prsa, H. 2011. Selection for drought tolerance in Kabuli type chickpea genotypes in Nishabur. Iranian Journal of Pulses Rrserch 2 (1) :27-38 (In Persian).
13. Hassan, M., Manzoortta, B., Mahmudshah, T., Ahsanulhaq, M., Syed, H., and Sarwaralam, S. 2005. Coerreation and path coefficient Studies in induced Mutation of ckipea (*Cicer arietinum* L.). Pakistan Journal of Botany 37: 293-298.
14. IBPGR, ICRISAT & ICARDA, 1993. Descriptors for Chickpea (*Cicer arietinum* L.) International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy; International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, India and International Center for Agriculture Research in the Dry Areas, Aleppo, Syria.
15. Joainnepor, M.S., GanjAli, A., and Prsa, H. 2008. Effect of drought stress on yield and yield components of Kabuli type figures. Tenth Iranian Crop Science Congress. Karaj. (In Persian).
16. Joainnepor, M.S., GanjAli, A., and Prsa, H. 2008. Effect of drought stress on yield and yield components in Kabuli type chickpea genotypes. Tenth Iranian Crop Science Congress. Karaj. (In Persian).
17. Malekzadeh Shafaroudi, S. 1995. A study of correlation Relations, providing selection indices and path analysis on yield and the performance rapeseed oil plant. Master's thesis. University. College of Agriculture, Tehran. (In Persian with English Summary).
18. Padi, F.K., 2003. Correlation and path coefficient analyses of yield and yield components in pigeonpea. Pakistan Journal of Biological Sciences 19: 1689-1694.
19. Rao, S.K., and Srivastava, A.N. 1995. Association analysis of characters affecting seed weight in chickpea. Bhartiya krishi anusandhan patrika 10: 11-15.
20. Saxena, M.C. 1984. Agronomic studies on winter chickpeas. In "Ascochyta Blight and Winter Sowing of Chickpeas" (Eds. M.C. Saxena and K.B. Singh) pp. 123-139. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands.
21. Saxena, M.C. and Singh. K.B. 1987. The chickpea, UK/Aleppo, Syria: CAB International/ICARDA.14.
22. Singh, K.B., Bejiga, G., and Malhotra, R. 1990. Associations of Some Characters with Seed Yield in Chickpea Collections. Euphytica 49: 83-88.
23. Toker, C. 1998. Estimate of heritabilities and genotype by environment interactions for 100-grain weight, days to flowering and plant height in kabuli chickpeas (*Cicer arietinum* L). Turk. J. Field Crops 3: 16-20.

24. Ulukan, H., Guler, M., and Keskin, S. 2003. A path coefficient analysis some yield and yield components in faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. Pakistan Journal of Biological Sciences 6 (23): 1951-1955.
25. Yucel, C., 2004. Correlation and path coefficient analyses of seed yield components in the narbon bean (*Vicia narbonensis* L.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry 28: 371-376.

Multivariate statistical analysis in chickpea (*Cicer arietinum L.*) under limited irrigation

Pirzadeh Moghaddam^{1*}, M., Bagheri², A. & Malekzadeh-Shafaroudi², S. & Ganjeali³, A.

1. MSc. in Plant Breeding

2. Contributions from College of Agriculture, and Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad,
Mashhad, IRAN

3. Contribution from Department of Biology, College of Sciences, and Research Center for Plant Sciences,
Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, IRAN

Received: 08 December 2012

Accepted: 27 November 2013

Abstract

In order to evaluate of yield and yield components of chickpea genotypes, path analysis set to facilitate the selection of high yielding varieties in limited irrigation. Research was conducted in 2010-2011 growing season at the Agricultural Research Station, Ferdowsi University of Mashhad, by using seven drought tolerante genotypes (recommended from a previous research) in a randomized complete block experimental design with four replications. Plots irrigated twice, first after planting and the second was in late flowering stage. Analysis of variance indicated a significant difference in seed weight, number of primary branches, type of plant growth, number of seeds per plant, harvest index and seed yield ($P \leq 0.05$). Analysis showed maximum correlation between biological yield and seed yield ($r = +0.64^{**}$), followed by harvest index with seed yield ($r = +0.63^{**}$) and Type of plant growth. ($r = +0.44^{**}$). Stepwise regression introduced number of primary and secondary branches, number of pod per plant, number of seeds per pod, biological yield, harvest index, Days to pod formation and maturationPath analysis introduced harvest index, biological yield and number of seeds per plant, as important characters, that should be selected indirectly. Principal components analysis, identified five components that explained more than 76 % of the seed yeild variation.

Keywords: Step by step regression, Path analysis, Principel component analysis

* Corresponding Author: mpirzademoghadam@yahoo.com

شناسایی نماتدهای پارازیت گیاهی جمع آوری شده از مزارع جبوهات در استان خراسان شمالی

سمیرا احمدی^{۱*}، عصمت مهدیخانی مقدم^۲ و ساره بقایی راوری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲ و ۳- به ترتیب دانشیار و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۰

چکیده

به منظور شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع جبوهات، مجموعاً ۴۱ نمونه ریشه و خاک اطراف ریشه‌های نخود، لوبیا و عدس از مزارع کشت این محصولات در مناطق مختلف استان خراسان شمالی جمع آوری و نماتدهای موجود در آن‌ها با استفاده از روش الک و سانتیفیوژ استخراج گردید. پس از تهیه اسلامیدهای میکروسوکوپی، نماتدهای استخراج شده با استفاده از منابع معتبر علمی مورد شناسایی قرار گرفت. در این بررسی ۱۱ گونه نماتد از هفت جنس متعلق به زیراسته‌های *Aphelenchoides limberi* و *Tylenchina* *Filenchus tenuidens* *Ditylenchus adasi* *Aphelenchus avenae spicomucronatus* *Pratylenchus helicotylenchus vulgaris* *Geocenamus tenuidens* *F. thornei cylindricaudus* *Ditylenchus adasi* *P. thornei neglectus* برای تشخیص داده شد. در بین گونه‌های شناسایی شده، گونه *P. thornei neglectus* اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جبوهات، خراسان شمالی، نماتدهای پارازیت گیاهی، *Aphelenchoides limberi*, *Tylenchina*

همچنین بهدلیل داشتن نظام ریشه‌ای عمیق و توانایی تحمل شرایط خشکی جهت کشت در نواحی خشک مناسب هستند. این محصولات مواد معدنی را به کمک نظام ریشه‌ای عمیق خود از لایه عمیق خاک جذب نموده و به شکل بقایای گیاهی آن‌ها را در اختیار قرار می‌دهند. بسیاری از جبوهات بهدلیل حالت پهن شوندگی خود، پوشش مناسبی بر روی خاک ایجاد نموده و موجب کاهش فرسایش خاک می‌شوند. همچنین جبوهات زودرس با رشد سریع خود موجبات خفه کردن علف‌های هرز را فراهم می‌کنند (Bagheri & Parsa 2009).

با توجه به اهمیت این محصولات از جنبه‌های مختلف کشاورزی، اقتصادی و غذایی، بررسی عوامل کاهش دهنده کمیت و کیفیت محصول ضروری است. یکی از این عوامل بیماری‌زای خاکری و کاهش دهنده محصول، نماتدها می‌باشند که می‌توانند در جمعیت‌های بالا خسارت قابل توجهی به بار آورند. لذا در رابطه با شناسایی نماتدهای انگل گیاهی، پراکنش آن‌ها در کشورهای مختلف و بررسی روش‌های کنترل آن‌ها مطالعاتی انجام شده است؛ از جمله:

Machado Menten et al. (1979) چندین گونه نماتد انگل گیاهی را در مزارع لوبیای ایتابرا، پیراسیکابا، تیت، ایالت سائو پائولو و بربیل از نمونه‌های ریشه و خاک جمع آوری

مقدمه

جبوهات متعلق به خانواده لگومینوزه و زیرخانواده پروانه آسا هستند. اکثر آن‌ها دارای یک ریشه قوی اصلی می‌باشند که این ریشه قادر است به اعماق نفوذ کند. در شرایط نسبتاً مرطوب، قسمت اعظم ریشه‌ها در لایه‌های فوقانی توسعه می‌یابند و در خاک‌های خشکتر، ریشه اصلی به سرعت طویل شده و انشعابی ایجاد نمی‌کند. برخلاف غلات که رشد ریشه‌های آن‌ها به هنگام نزدیک شدن گیاه به مرحله رسیدن متوقف می‌شود، در جبوهات، ریشه‌ها تا هنگام رسیدن، به رشد خود ادامه می‌دهند. یکی از خصوصیات منحصر به فرد در بقولات، تشکیل گره روی ریشه‌های آن‌ها می‌باشد و باکتری‌های موجود در این گره‌ها قادرند ازت هوا را تثبیت کنند و در اختیار گیاه قرار دهند (Koochecki, 1985). کشت حبوهات از طریق تأثیر بر خواص شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی خاک و تثبیت هوا، موجب بهبود حاصلخیزی و باروری خاک می‌شود. این محصولات در نظام‌های زراعی به افزایش عملکرد محصولات بعدی کمک می‌کنند. همچنین جای دادن جبوهات در نظام‌های زراعی در کاهش وقوع بیماری‌ها مؤثر است.

* نویسنده مسئول: ahmadi_samira85@yahoo.com .۰۹۱۵۸۹۷۴۱۸۷

در ایران از مزارع لوبيا در منطقه خمین ۱۴ گونه نماد انگل گیاهی متعلق به ۱۲ جنس شناسایی شده است. این گونه‌ها عبارتند از: *Amplimerlinius Ditylenchus kheirii*, *G. stegus Geocenemus brevidens macrurus P. penetrans neglectus Pratylenchus Helicotylenchus vulgaris Zygotylenchus guevarai Mesocriconema Criconemella parvus Gracilacus Paratylenchus similis antipolitanum Xiphinema* و *Aphelenchoides centralis idalima pachtaicum* که پراکندگی و گسترش جنس‌های *Pratylenchus Geocenamus Ditylenchus Paratylenchus* نسبت به سایر جنس‌ها بیشتر بوده است (Mohammad Deimi et al., 2008). در بررسی نمادهای انگل گیاهی مزارع باقلا در استان خوزستان هفت گونه از جنس *Pratylenchus* شناسایی گردید. این گونه‌ها عبارتند از: *P. scribneri P.thornei Pratylenchus neglectus P. teres P. crassi P. delattrei zaeae Azimi & Mahdikhani–Moghadam, 2013*. همچنین از مزارع باقلا در استان خوزستان از جنس کمیاب *A. homoglans A. belli* گونه و *P. mulchandi P. indicus P. coffeeae* جمع‌آوری و شناسایی شده و برای اولین بار از ایران گزارش گردید (Azimi et al., 2014).

باتوجه به اهمیت حبوبات از جنبه‌های مختلف کشاورزی، اقتصادی و غذایی، بررسی عواملی که در کاهش محصول و یا از بین بردن این محصولات در هر منطقه‌ای دخالت دارند ضروری به‌نظر می‌رسد. یکی از عوامل کاهش‌دهنده کمیت و کیفیت محصول در خاک این مزارع، نمادهای پارازیت گیاهی می‌باشند که می‌توانند در جمعیت بالا خسارت قابل توجهی به محصول وارد کنند. با توجه به اینکه از استان مورد مطالعه هیچ‌گونه گزارشی از نمادهای مزارع حبوبات در دست نمی‌باشد بنابراین شناسایی نمادهای انگل گیاهی حبوبات در این منطقه از اهمیت زیادی برخوردار است و در این تحقیق مدنظر بوده است.

مواد و روش‌ها

بهمنظور شناسایی نمادهای انگل گیاهی مزارع حبوبات استان خراسان شمالی، طی سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ تعداد ۴۱ نمونه خاک و ریشه از مزارع مختلف مناطق کشت این محصول در استان جمع‌آوری شد. مشخصات لازم از نظر منطقه

و شناسایی کردند که شامل گونه‌های *Pratylenchus dihystera Helicotylenchus brachyurus Meloidogyne* sp. و *Helicotylenchus* sp. *Tylenchorhynchus M.javanica Trichodorus* sp. *P.zaeae* و *Ditylenchus dipsaci* بودند. (Sturhan (1980) در مزارع باقلا را به عنوان یکی از مشکلات این مزارع اعلام کرد و مشخص نمود که واریته‌های *Vicia faba* در تحمل به *D. dipsaci* متنوع هستند. همچنین ایشان عنوان کرد که مزارع لوبيا در مقایسه با مزارع باقلا میزان‌های ضعیفی برای این نماد هستند. (Prakash 1981) برای اولین بار *M. javanica* را از روی ریشه‌های عدس از اوتا پرداش هند گزارش نمود. Ali & Askary (2001_a) مشاهده کردند که حبوبات در هند توسط نمادهای پارازیت گیاهی رایج آن منطقه مورد حمله قرار گرفته که از این میان محصول نخود مورد حمله سه گونه نماد ریشه گرهی *M. M. javanica M. incognita* *arenaria* قرار گرفته است و در میان چهار گونه نماد زخم ریشه گزارش شده در نخود، تنها گونه *Pratylenchus thornei* انتشار وسیعی داشت اما گونه‌های دیگر این جنس از *P. zeae* و *P. mulchandi* *P. indicus* *P. coffeeae* جمله نیز با جمعیت کمتر در طبیعت وجود داشتند. در روی ریشه ماش و خاک اطراف آن، ۱۱ گونه نماد انگل گیاهی گزارش شده که گونه‌های *M. javanica incognita* و *Heterodera cajani* از پارازیت‌های داخلی گیاه بوده و باعث تغییرات عمده‌ای در گیاه می‌شوند. گونه‌های *M. javanica incognita* از نمادهای خسارت زا و مهم در عدس، نخود، خلر و لوبيا چشم بلبلی محسوب می‌شوند. علاوه بر گونه‌های مذکور از خاک اطراف ریشه‌های عدس، جنس‌های *Helicotylenchus Scutellonema Hoplolaimus* نیز گزارش شده است (Ali & Askary, 2001_b). همچنین آن‌ها گزارش کردند که نمادهای انگل گیاهی در ریزوسفر نخود، لوبيای سودانی، ماش، عدس و لوبيای چشم بلبلی در هند وجود دارند که در میان آن‌ها پراکنش دو گونه *M. javanica* و *M. incognita* بیشتر از گونه‌های دیگر است. از مزارع لوبيا چشم بلبلی در سه منطقه آب و هوایی کشاورزی بورکینا فاسو واقع در غرب آفریقا، ۱۲ جنس نماد انگل گیاهی شناسایی شده است که شش جنس *Pratylenchus Scutellonema Meloidogyne Helicotylenchus Tylenchorhynchus* و *Telotylenchus* از گل‌های مهمی (Sawadogo et al., 2009)

۳- گونه *Aphelenchus avenae* Bastian, 1865

این گونه اولین بار توسط (Bastian, 1865) از بقایای گیاهی پس از برداشت در انگلستان جمع‌آوری و گزارش شد. در ایران، گونه‌ی مذکور از خاک مزارع و باغ‌های مختلف کشور توسط محققین مختلف گزارش شده است. این نماتد قارچ خوار است و در این بررسی، از خاک اطراف ریشه‌های نخود از روستاهای کلاغ آشیان و ینگه قلعه دشتی واقع در شهرستان بجنورد، مفرنقا و داغیان واقع در شهرستان فاروج و همچنین از خاک اطراف ریشه‌های عدس از روستای میرزا رجب واقع در شهرستان فاروج جمع‌آوری و شناسایی گردید.

۴- گونه (Sykes, 1980) Fortuner & Maggenti, 1987

Ditylenchus adasi

(شکل ۱ و جدول ۱)

مشخصات:

ماده: بدن نماتد ماده پس از تثبیت به صورت مستقیم یا کمی خمیده است. بدن نماتد از قسمت فرج به سمت انتهای بدن به طور مشخصی باریک می‌شود. شیارهای عرضی بدن مشخص و هر شیار عرضی در قسمت وسط بدن ۱/۶ میکرومتر می‌باشد. سطوح جانبی بدن دارای چهار شیار طولی است که دو شیار داخلی خیلی واضح نیست. همیزونید مشخص و به طول سه شیار عرضی بدن و به فاصله دو شیار عرضی جلوتر از منفذ ترشحی. همیزونیون به طول یک شیار عرضی بدن و به فاصله یک شیار عرضی عقب‌تر از منفذ دفعی- ترشحی. منفذ دفعی- ترشحی در پشت همیزونید و در انتهای لوله ثانویه مری، دارای مجرای دفعی- ترشحی مشخص. سر نسبتاً کوتاه و تخت و در اتصال به بدن حالت پیوسته دارد، عرض سر ۷/۴ میکرومتر و بلندی آن ۲/۲ میکرومتر، دارای دو یا سه شیار عرضی، شبکه کوتیکولی سر ضعیف تا متوسط، دارای استایلت مشخص با گره‌های درشت و گرد و کمی متمایل به سمت عقب بدن، قسمت مخروطی آن یک سوم طول استایلت می‌باشد. طول استایلت ۱۲ میکرومتر. مری رشد یافته و باریک و بلند، حباب میانی مری دوکی شکل و نامشخص و بدون دریچه، لوله میانی مری باریک و بلند، حباب انتهایی مری گلابی شکل و با روده حالت اتصالی دارد. راست روده حدود نصف عرض بدن در ناحیه مخرج دارای یک تخدمان که به سمت جلوی بدن کشیده شده، فرج مشخص و در نیمه دوم بدن، واژن توسعه یافته، کیسه عقی رحم کمی بلندتر از یک و نیم برابر عرض بدن در ناحیه فرج، کیسه ذخیره اسپرم مشخص، استوانه‌ای کشیده و پر از اسپرم‌های گرد، تخمک‌ها در یک ردیف، دم کشیده و بلند و با انتهای گرد.

نمونه‌برداری و نوع گیاه کشت شده بر روی نمونه نوشته شده و نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شد.

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، شستشوی خاک، استخراج نماتدها، تثبیت و انتقال آن‌ها به گلیسیرین طبق روش دگریس (De Grisse, 1969) انجام گرفت. پس از تثبیت نماتدها در گلیسیرین، به منظور جلوگیری از جذب رطوبت، پتربایانی حاوی نماتد در دیسکاتور حاوی کلورکلریم نگهداری شدند. سپس اسلایدی‌های دائم از نماتدها تهیه گردید و مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. جهت شناسایی نماتدها خصوصیات مرغولوژیک آن‌ها، به لحاظ کمی و کیفی مورد بررسی و مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت. پارامترهای لازم در شناسایی اندازه‌گیری شد و با استفاده از منابع و کلیدهای موجود، به تشخیص گونه‌ها اقدام گردید.

نتایج و بحث

در این تحقیق تعداد ۱۱ گونه از هفت جنس مربوط به زیراسته‌های *Aphelenchina* و *Tylenchina* به شرح زیر مورد شناسایی قرار گرفت:

۱- گونه *Aphelenchoides limberi* Steiner, 1936

این گونه اولین بار توسط (Steiner, 1936) از ریشه‌های هیرید *Iris tingitana* در هلند گزارش شد. در ایران اولین بار (Kheiri, 1972) از خاک اطراف ریشه‌ی گوجه‌فرنگی و گندم در منطقه کرج جمع‌آوری و گزارش نمود. در این بررسی گونه مورد مطالعه از خاک اطراف ریشه‌های عدس از روستای جعفرآباد واقع در شهرستان بجنورد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

۲- گونه *Aphelenchoides spicomucronatus* Truskova, 1973

این گونه اولین بار توسط (Truskova, 1973) از خاک اطراف ریشه گیاه *Glycine hispida* در منطقه آمور شوروی سابق گزارش شده است. (Rashid et al., 1986) بدون ذکر نام میزبان، آن را از بزرگی معرفی نموده‌اند. در ایران اولین بار این گونه توسط (Jamali et al., 2003) از ریزوسفر جو، از منطقه درچه اصفهان جداسازی و گزارش گردید. در این تحقیق گونه مورد نظر از خاک اطراف ریشه‌های عدس از روستای سلیمان آباد شهرستان فاروج و خاک اطراف ریشه نخود از روستای جرتوده واقع در شهرستان فاروج جمع‌آوری و شناسایی گردید.

این گونه اولین بار توسط (Gritzenko, 1971) گزارش گردید. در ایران گونه مذکور اولین بار توسط (et al., 2014) از مزارع گوجه فرنگی استان خراسان شمالی گزارش گردید. در این بررسی، گونه‌ی فوق از خاک اطراف ریشه‌های عدس از روستای جعفرآباد شهرستان بجنورد و حاج تقی فاروج و نخود از روستای سلیم آباد واقع در شهرستان فاروج و نیز حومه بجنورد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

۶- گونه *Filenchus cylindricaudus* (Wu, 1969) Siddiqi, 1986

این گونه اولین بار توسط (Wu, 1969) از خاک اطراف ریشه علف، یونجه خشک و خزه در کانادا با نام *Tylenchus cylindricaudus* Siddiqi, 1986 (Raski & Geraert, 1986) به نام امروزی تغییر یافت. این گونه برای اولین بار از خاک اطراف ریشه‌ی بادام از شهرستان تفت به صورت *Filenchus sp.* گزارش گردید. بعد از آن، از خاک مزارع سیب زمینی (بستان آباد)، هندوانه (گند کاووس)، یونجه (قهووند) جمع‌آوری و با نام *F. cylindricaudus* Karegar & Geraert (1998). در این بررسی، گونه‌ی مذکور از خاک اطراف ریشه‌های نخود از روستاهای رضا آباد شرقی، مفرنقاوه شهرستان فاروج و روستای ینگه قلعه دشتی واقع در شهرستان بجنورد و نیز از خاک اطراف ریشه‌های عدس از روستای سلیم آباد فاروج جمع‌آوری و شناسایی گردید.

در نمونه‌های مورد بررسی نر مشاهده نشد.

بحث: با استفاده از کلید بررسکی (1991) مشخصات و اندازه‌های نمونه با گونه‌ی *D. adasi* مطابقت نشان می‌دهد. همچنین مشخصات نمونه‌های جمع‌آوری شده با گونه‌های *D. allii* و *D. basiri* و *D. cylindricus* از نظر تعداد شیارهای سطوح جانبی بدن، انتهای دم و طول کیسه عقبی رحم شباهت دارند. هر چهار گونه دارای چهار شیار طولی در سطوح جانبی بدن، انتهای دم گرد و کیسه عقبی رحم بلندتر از عرض بدن در ناحیه فرج است. ولی در گونه مورد مطالعه طول بدن بلندتر از سه گونه دیگر (۰/۸۰ - ۰/۶۰ میلیمتر) است. *D. adasi* با گونه *D. acris* نیز شباهت دارد اما در گونه مورد مطالعه، سر نماتد بیشتر مسطح، انتهای دم تیز نبوده و گرد می‌باشد، طول دم حدود ۷/۵ برابر عرض بدن در ناحیه مخرج و در گونه *D. acris* طول دم حدود پنج برابر عرض بدن در ناحیه مخرج است. در گونه مورد مطالعه، استایلت مشخص با گره‌های مشخص و در گونه *D. acris* استایلت ضعیف می‌باشد. ویژگی بارز گونه مورد مطالعه، استایلت بلند با گره‌های مشخص در مقایسه با گونه‌های مشابه می‌باشد.

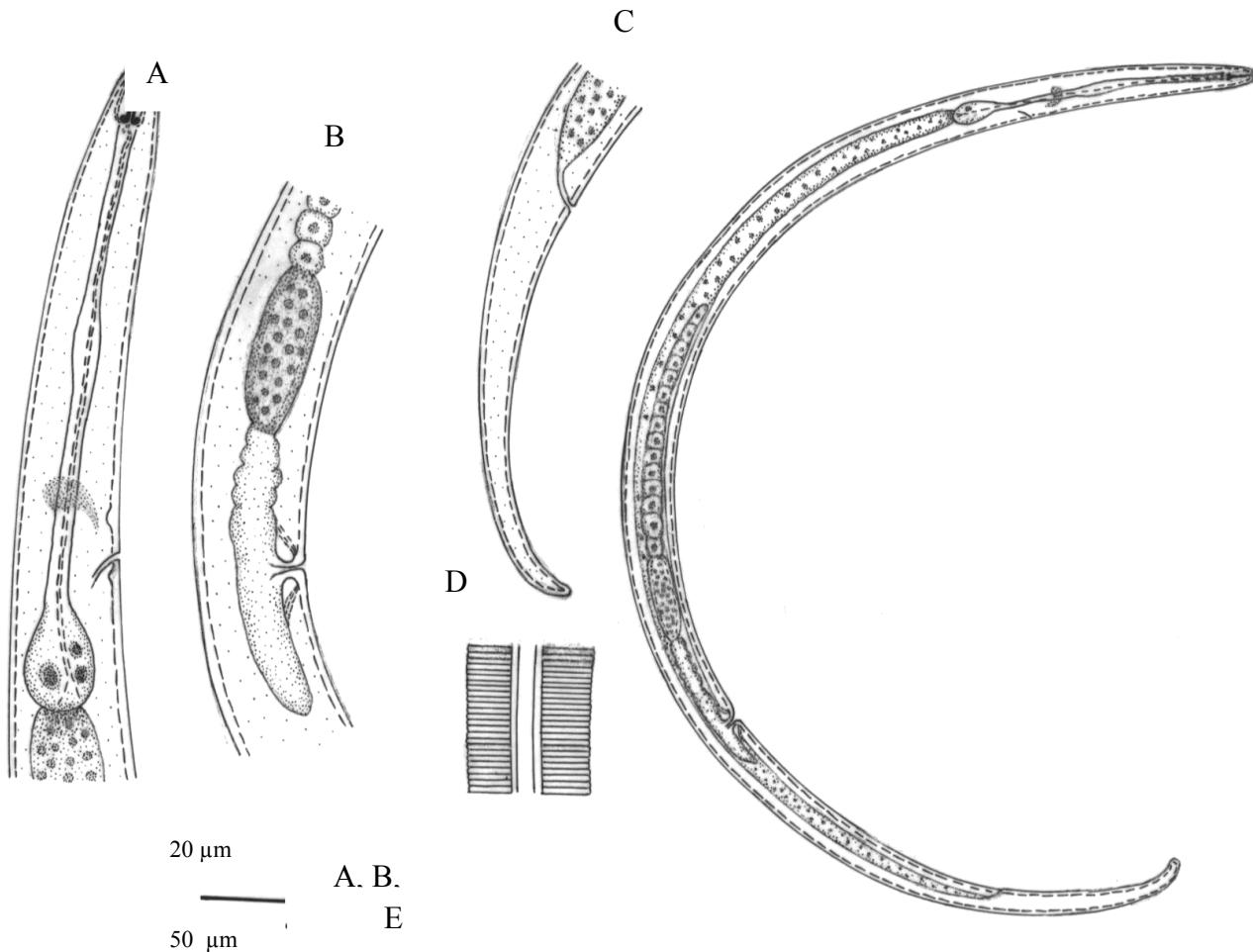
در دنیا اولین بار این گونه توسط (Sykes, 1980) از خاک اطراف ریشه‌های چندرقند از یورکشاير در انگلستان جمع‌آوری و شناسایی گردید. در این بررسی گونه مورد مطالعه از خاک اطراف ریشه نخود از روستای جعفرآباد واقع در شهرستان بجنورد جمع‌آوری و شناسایی گردید. این گونه اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

۵- گونه *Ditylenchus tenuidens* Gritzenko, 1971

جدول ۱- خصوصیات مروفومتریک گونه *Ditylenchus adasi* جمع‌آوری شده از ایران و مقایسه آن با جمعیت‌های دیگر (اندازه‌ها به میکرومتر است)

Table 1. Morphometric characters of the Iranian population of *Ditylenchus adasi* in comparing to other population (All measurements in micro-meter)

Origin Characters	North Khorasan Province		Poland, Stezyca Brzeski, 1991	Poland, Gdynia-Cisowa Brzeski, 1991
		Female		
N		2	16	2
L		0.68 , 0.73	0.83 (0.78- 0.86)	0.85, 0.87
Tail		80, 88	89 (84-96)	88, 92
a		34, 36.5	36 (33-39)	40, 44
b		5.2, 5.5	5.4 (5.0- 5.9)	5.3, 5.6
MB		42.3, 42.4	4 4(39-46)	41, 45
c		8.2, 8.5	9.5 (8.8- 10.2)	9.5, 9.8
c'		5.7, 6.2	6.1 (5.1- 6.7)	6.4, 7.1
VA/T		1.5	1.6 (1.4-1.8)	1.4
V'		75.8, 76	81 (79-83)	83, 84
V		66.8, 66.9	72 (71-74)	74, 75
Stylet		12	12.2 (12- 13)	12, 13



شکل ۱ - گونه A : *Ditylenchus adasi* - بخش جلویی بدن نماتد ماده، B - فرج، کيسه عقبی رحم و وضعیت تخدمان، C - شکل دم در نماتد ماده، D - شیارهای طولی سطوح جانبی بدن و E - نمای کلی بدن نماتد ماده

Fig. 1. *Ditylenchus adasi*: A) Anterior region of female, B) Vulva, post vulval sac and ovary, C) Tail, D) Lateral fields and E) Entire body.

Geocenamus tenuidens Thorne & Malek, 1968 - گونه ۸

(Thorne & Malek, 1968) این گونه اولین بار توسط (Fadavi گزارش گردید. در ایران این گونه اولین بار توسط Khalajlo *et al.*, 2013) از مزارع گوجه فرنگی استان خراسان شمالی شناسایی و گزارش شد. در این بررسی، گونه‌ی مورد مطالعه از خاک اطراف روستاهای عدس روستای جعفرآباد و حومه بجنورد و روستای حاج تقی شهرستان بجنورد و نخود روستاهای مفرنقاوه و رضا آباد شرقی واقع در شهرستان فاروج جمع‌آوری و شناسایی گردید.

Filenchus thornei Andrassy, 1963 - گونه ۷

(Andrassy 1954) این گونه اولین بار توسط (Andrassy 1954) معرفی و توصیف گردید. در ایران گونه مذکور اولین بار توسط (Pakniyat 2008) از مزارع کلزای استان فارس گزارش گردید. در این بررسی، گونه فوق بهترتیب از خاک اطراف روستاهای لوبیا، عدس، نخود از روستاهای چتاران، جعفرآباد و ینگه قلعه دشتی واقع در شهرستان بجنورد و همچنین عدس از روستای سلیمان آباد شهرستان فاروج، جمع‌آوری و شناسایی گردید.

از نقاط مختلف کشور و از روی میزبان‌های مختلف جمع‌آوری و گزارش شده است. در این بررسی، این گونه از خاک اطراف ریشه‌های لوبیا از روستاهای چناران و پیغو واقع در شهرستان بجنورد، و نخود و عدس بهتر ترتیب از روستاهای مفرنقا، داغیان شهرستان فاروج و روستای میرزار جب واقع در شهرستان فاروج جمع‌آوری و شناسایی گردید.

۱۱- گونه *Pratylenchus thornei* Sher & Allen, 1953

این گونه اولین بار از روی یک نوع گراس و در کالیفرنیا توسط (Sher & Allen 1953) معرفی شده است. در ایران اولین بار این گونه از مزارع گندم، چغندر، بادام زمینی، گوجه‌فرنگی، سویا، لوبیا، سیب زمینی، آفتابگردان در کرج و چای‌کاری‌های رشت گزارش شد (Kheiri, 1972); سپس توسط محققین مختلف از مزارع و باغات مختلف کشور گزارش گردید. در این بررسی، این گونه از خاک اطراف ریشه‌های نخود از حومه شهرستان بجنورد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

۹- گونه *Helicotylenchus vulgaris* Yuen, 1964

این گونه اولین بار توسط (Yuen 1964) از کشور انگلستان و از خاک اطراف ریشه یک نوع گراس شناسایی و معرفی گردیده است. در ایران اولین بار (Pakniyat, 1991) آن را از باغات انگور استان فارس گزارش کرد. در این مطالعه گونه مذکور از خاک اطراف ریشه نخود از روستای ینگه قلعه دشتی واقع در شهرستان بجنورد در استان خراسان شمالی جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت.

۱۰- گونه *Pratylenchus neglectus* (Rensch, 1924)

Filipjev & Schuurmans stekhoven, 1941

این گونه اولین بار از خاک اطراف ریشه‌های چاودار در کشور آلمان شناسایی گردید. این نماتد در مناطق معتدل جهان انتشار داشته و تاکنون از میزبان‌های مختلف از قبیل غلات، چلیپائیان، حبوبات، توت فرنگی و درختان میوه گزارش شده است (Townshend & Anderson, 1976). این گونه برای اولین بار توسط (Kheiri, 1972) از روی هندوانه، بادام زمینی و سویا گزارش گردید. سپس توسط سایر محققین

منابع

- Ali, S.S., and Askary, T.H. 2001(a). Taxonomic status of phytonematodes associated with pulse crops. Current Nematology 12 (1,2): 75- 84.
- Ali, S.S., and Askary, T.H. 2001(b). Taxonomic status of nematodes of pulse crops. Nematode taxonomy: Concepts and recent trends. Proceeding of the workshop at Maulana Azad National Urdu University, pp. 197-216.
- Andrassy, I. 1954. Revision der Gattung *Tylenchus* Bastian, 1865 (Tylenchidae, Nematoda). Acta Zool. Hung. 1, 5-42.
- Azimi, S., Mahdikhani-Moghadam, E. 2013. Root lesion nematodes associated with faba bean fields in Iran with two new records of *Pratylenchus crassi* Das & Sultana (1979) and *P. teres* Khan & Singh (1974). Advanced Crop Science 3 (6): 398-404.
- Azimi, S., Mahdikhani-Moghadam, E., Rouhani, H., and Rajabi-Memari, H. 2014. The rare genus *Apratylenchoïdes* Sher, 1973 (Nematoda: Pratylenchidae) from faba bean in Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection 5 (1):1-7.
- Bagheri, A.R., and Parsa, M. 2009. Pulses. Jahad daneshgahi Mashhad.
- Bastian, H.C. 1865. Monograph on the Anguillulidae, or free nematodes, marine, land and fresh water; with descriptions of 100 new species. Transactions of Linnaean Society of London, 25:1-248.
- Brzeski, M.W. 1991. Review of the genus *Ditylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda: Anguinidae). Revue de Nematologie 14: 9-59.
- De Grisse, A.T. 1969. Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans L; etude des Nematode phytoparasitaires. Meded Rijksfaculteit der Landbouwwetenschappen Gent, 34: 351-369.
- Fadavi Khalajlo, G., Mahdikhani Moghadam, E., and Rouhani, H. 2013. Identification of Tylenchina and Aphelenchina nematodes in tomato fields of North Khorasan province. Journal of Plant Protection 27 (2): 169-176.
- Fadavi Khalajlo, G., Mahdikhani Moghadam, E., and Rouhani, H. 2014. Identification of *Ditylenchus* species of tomato fields in North Khorasan province. Iranian Journal of Plant Protection Science 44 (2): 183-190.
- Gritzenko, V.P. 1971. *Ditylenchus tenuidens* sp. n. and *Aphelenchoïdes curiolis* sp. n. (Nematoda, Tylenchidae, Aphelenchoididae) from Kirghizia. Zoologicheskii Zhurnal, 50: 1402-1405.

13. Karegar, A. and Geraert, E. 1998. Descriptions of *Filenchus paravesiculosus* sp. n. and three other species of the genus *Filenchus* Andrassy, 1954 (Nemata: Tylenchidae) from Iran. *Nematologica*, 44: 225-239.
14. Karegar, A. 2006. Identification of plant parasitic nematodes associated with sugar beet fields and their distribution in Hamadan Province, Iran. *Iranian journal of Plant Pathology* 42 (1): 159-178.
15. Kheiri, A. 1972. Plant parasitic nematodes (Tylenchida) from Iran. *Biol .Jb .Dodonaea* 40: 224-239.
16. Koochecki, A. 1985. Agronomy in arid zone. *Jahad Daneshgahi Mashhad*.
17. Jamali, S., Pourjam, E., Kheiri, A., and Damadzadeh, M. 2003. Identification of *Aphelenchoides* species collected from cereal fields in Isfahan Province. *Iranian journal of Plant Pathology* 39 (1-2): 17-32.
18. Machado Menten, J.O., Lordello, L.G.E., Tulmann Neto, A., and Ando, A. 1979. Nematodes associated with beans (*Phaseolus vulgaris*) in Sao Paulo State: preliminary information, *Trabalhos apresentados a IV Reuniao Brasileria de Nematologia*, 4: 205-212.
19. Mohammad Deimi, A., Ghalandar, M., and Barooti, S. 2008. Study of plant parasitic nematodes on bean in Khomein. Proceeding of the 18th Iranian Plant Protection Congress, Hamedan, Iran. p. 559.
20. Pakniyat, M. 1991. Identification of plant parasitic nematodes of grape in Fars province. MSc. Thesis, College of Agriculture, Tehran University.
21. Pakniyat, M. 2008. Identification of plant parasitic nematodes (Tylenchida) of rapeseed in Fars province. Proceeding of the 18th Iranian Plant Protection Congress, Hamedan, Iran. p. 583.
22. Prakash, A. 1981. *Lens culinaris* - a new host for root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in India, National Academy Science Letters 4 (12): 459.
23. Rashid, F., Geraert, E., and Sharma, H.K. 1986. *Seinura*, *Aphelenchoides* and *Aphelenchus* from Brazil (Nematoda: Aphelenchina). *Biol. Jb. Dodonaea* 54: 30-45.
24. Raski, D. J., and Geraert, E. 1986. Review of the genus *Filenchus* Andrassy, 1954, and description of six new species (Nemata: Tylenchidae). *Nematologica* 32: 265-311.
25. Sawadogo, A., Thio, B., Kiemde, S., Drabo, I., Dabire, C., Ouedraogo, J., Mullens, T.R., Ehlers, J.D., and Roberts, P.A. 2009. Distribution and prevalence of parasitic nematodes of cowpea (*Vigna unguiculata*) in Burkina Faso, *Journal of Nematology* 41 (2): 120- 127.
26. Sher, S.A., and Allen, M.W. 1953. C.I.H. Description of Plant Parasitic Nematodes, set. 7, No. 93. Farnham royal, U.K.: *Pratylenchus thornei* Common Wealth Agricultural Bureaux.
27. Siddiqi, M.R. 1986. Tylenchida (Parasitic of Plants and Insects). Common Wealth Agriculture Bureaux. U.K. 645 pp.
28. Siddiqi, M.R. 2000. Tylenchida (Parasitic of Plants and Insects). 2nd ed. CABI publishing. New York.
29. Sturhan, D. 1980. Nematode problems of field beans (*Vicia faba*), *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt fur Land- und Forstwirtschaft*. 197: 49-57.
30. Sykes, G.B. 1980. A new species of *Nothotylenchus* (Nematoda; Neotylenchoidea) from England. *Systematic Parasitology* 1: 237-239
31. Thorne, G., and Malek, R.B. 1968. Nematodes of the Northen Great Plains, Part1. Tylenchida (Nemata: Secernentea). *Agricultural Experiment Station Bull* 31: 1-111.
32. Truskova, G.M. 1973. A new species of nematodes of the genus *Aphelenchoides* Fisher, 1894 (Nematoda: Aphelenchoididae). *Parasitologia* 7: 188-189. (In Russian).
33. Townshend, J.L., and Anderson, R.V. 1976. *Pratylenchus neglectus*. C.I.H. Description of Plant Parasitic Nematodes, set. 6, No. 82. Farnham Royal, U.K.: Common Wealth Agricultural Bureaux.
34. Wu, L.Y. 1969. Dactylotylenchiae, a new subfamily (Tylenchidae: Nematoda). *Canadian Journal of Zoology* 47: 909-911.
35. Yuen, P.H. 1964. Four new species of *Helicotylenchus* Steiner (Haplolaiminae: Tylenchida) and a re-description of *H. canadensis* Waseem, 1961. *Nematologica* 10: 373-387.

Identification of plant parasitic nematode collected from pulse fields in Northern Khorasan province

Ahmadi^{1*}, S., Mahdikhani Moghaddam², E. & Baghaee Ravari³, S.

1. MSc. Student, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2 & 3. Associate Professor and Assistant Professor (Respectively) of Plant Pathology,
College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 05 March 2013

Accepted: 31 December 2014

Abstract

In order to identify the plant parasitic nematodes of pulse fields in Northern Khorasan province, 41 soil and root samples were collected from rhizosphere of *Pisum* sp., *Phaseoulus* sp., *Lens* sp. during 2011 and 2012. The nematodes were extracted by combined sieving and centrifugal-flotation method of Jenkins (1969) and transferred to glycerin by using method of De Grisse (1969). The permanent slides were prepared and the nematodes were studied by light microscopy. In this study, 11 species from seven genera belonging to Tylenchina and Aphelenchina were identified as follows: *Aphelenchus avenae*, *Aphelenchoides limberi*, *A. spicomucronatus*, *Ditylenchus adasi*, *D. tenuidens*, *Filenchus cylindricaudus*, *F. thornei*, *Geocenamus tenuidens*, *Helicotylenchus vulgaris*, *Pratylenchus neglectus*, *P. thornei*. Among these species, *Ditylenchus adasi* is new record for nematode fauna of Iran.

Key words: Northern Khorasan, plant parasitic nematodes, Pulse, Tylenchina, Aphelenchina

* Corresponding Author: ahmadi_samira85@yahoo.com

بررسی پایداری ژنوتیپ‌های لوبيا به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی با عامل *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Muir) و مویر (AMMI)

حمیدرضا دری^۱، محمد رضا لک^{۲*} و بهروز اسدی^۳

۱- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، ایستگاه لوبيا خمین

۲- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، اراک

۳- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، ایستگاه لوبيا خمین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۰۳

چکیده

بیماری‌های لوبيا در ایران و جهان محسوب می‌شود. استفاده از سوم شیمیایی تأثیری در کنترل بیماری ندارد. بهترین روش کنترل بیماری، استفاده از ارقام مقاوم با تولید محصول پایدار می‌باشد. در این پژوهش، ۲۶ ژنوتیپ لوبيا جهت ارزیابی پایداری و سازگاری عملکرد در شرایط آلودگی مصنوعی و غیرآلوده به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبيا طی سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی ارزیابی شد. پایداری ژنوتیپ‌های لوبيا به روش‌های رگرسیونی، تجزیه اثرات اصلی جمع‌پذیر و اثرات متقابل ضرب‌پذیر (AMMI) و مویر انجام گردید. در روش رگرسیون باتوجه به سه عامل عملکرد، ضرب زاویه و انحراف از رگرسیون، ژنوتیپ ۲۱۴۰۷ مناسب‌ترین ژنوتیپ انتخاب شد. در تجزیه اموی دو مؤلفه اصلی اول و دوم جمماً ۹۰ درصد تغییرات اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط را توجیه می‌کنند. نمودار دو طرفه میانگین عملکرد و مؤلفه اصلی اول نشان داد ژنوتیپ‌های ۲۱۴۰۷ و ۲۱۲۷۵ از عملکرد بالا و پایداری مناسب برخوردار بودند. بر اساس تجزیه واریانس مویر، ۲۱ درصد اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط مربوط به واریانس هتروژن (HV) و ۷۹ درصد مربوط به اثر متقابل غیر همبسته (IC) می‌باشد. در این روش ژنوتیپ ۲۱۴۱۰ کمترین درصد مجموع مرباعات اثرات متقابل ژنوتیپ در محیط و بیشترین پایداری را نشان داد. در مجموع، براساس سه شاخص پایداری، عملکرد و مقاومت به بیماری، لاین ۲۱۴۰۷ مناسب‌ترین ژنوتیپ شناسایی گردید.

واژه‌های کلیدی: اموی، پایداری، رگرسیون، لوبيا، مویر

2000). تاکنون روش شیمیایی مؤثری برای کنترل بیماری توصیه نشده است (Mohamed & Coyne, 1995). استفاده از ارقام مقاوم که از پایداری و سازگاری مناسب برخوردار باشند به عنوان روش مبارزه درازمدت تأکید بسیار شده است (Valladares-Sanchez *et al.*, 1983; Aggour & Goyne, 1989). ارزیابی پایداری ژنوتیپ‌ها صرفاً به مکان‌های مختلف محدود نمی‌شود. بررسی پایداری ارقام در واکنش به انواع محیط‌ها با تنفس زنده و غیرزنده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. (Mulusew *et al.*, 2010). در بررسی ۱۶ ژنوتیپ نخود در شرایط آلودگی به بیماری‌های سفیدک دروغی، سفیدک پودری و برق‌زدگی نخود، دو ژنوتیپ ۱۵۲۳-IFPI-2711 و ۱۵۲۳-IFPI-2711 را به عنوان ژنوتیپ‌های با پایداری بالا گزارش کردند. آن‌ها با مطالعه ارتباط شدت بیماری با عملکرد و پارامترهای پایداری نشان دادند تغییرات شدت بیماری در محیط‌های مختلف یکی از عوامل مهم در پایداری عملکرد دانه است.

مقدمه

سوختگی باکتریایی معمولی لوبيا در اثر *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) از بیماری‌های مهم لوبيا در اکثر مناطق کشت این محصول بهویژه در نواحی گرم و مطروب می‌باشد (Gilbertson & Maxwell, 1992). بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبيا در اثر Xap اولین بار در سال ۱۸۹۲ میلادی توسط Beach از نیویورک گزارش شد (Gilbertson & Maxwell, 1992) و امروزه در اکثر کشورهای توسعه‌یافته خسارت ناشی از این بیماری گاهی به بیش از ۴۰٪ می‌رسد (Opio *et al.*, 1996). در سال ۱۳۷۷ در ایران برای اولین بار وقوع بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبيا در اثر Lak *et al.* از مزارع لوبيای شهرستان اراک گزارش گردید (

* نویسنده مسئول: اراک، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، تلفن: ۰۸۶۱-۳۶۷۵۵۷۱، rezalak2000@yahoo.com

متقابل ژنتیپ × محیط^۱ (SSGE) را به دو قسمت اثر متقابل واریانس هتروژن^۲ (SSHV) و اثر متقابل عدم همبسته محیطی^۳ (SSIC) تقسیم کرد. واریانس هتروژن، آن بخش از مجموع مربعت اثر متقابل را نشان می‌دهد که تغییر رتبه در ژنتیپ ایجاد نمی‌شود. اما اثر متقابل عدم همبسته محیطی، آن بخش از مجموع اثرات متقابل ژنتیپ × محیط را نشان می‌دهد که تغییر رتبه برای ژنتیپ در محیط‌های مختلف ایجاد می‌شود. لذا هر چه سهم اثر متقابل عدم همبسته محیطی از اثر متقابل، کمتر و به همان نسبت سهم واریانس هتروژن بیشتر باشد، ژنتیپ‌ها از پایداری بیشتری برخوردارند (Muir *et al.*, 1992). هدف از اجرای این پژوهش، شناسایی ژنتیپ‌های مقاوم به بیماری سوختگی باکتریایی عumولی لوبيا در اثر *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* با پایداری و سازگاری مناسب بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۲۶ ژنتیپ لوبيا (جدول ۱) شامل ۲۴ ژنتیپ لوبيایی عumولی به همراه دو شاهد متتحمل به بیماری سوختگی باکتریایی عumولی لوبيا دریافتی از^۴ CIAT (مرکز تحقیقات بین المللی گیاهان حاره) مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش طی سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی در دو شرایط آلوده و غیرآلوده به بیماری سوختگی باکتریایی اجرا گردید. آبیاری مزارع به روش بارانی و آلودگی به بیماری سوختگی باکتریایی به صورت مصنوعی انجام شد. به این منظور از جدایه Xap موجود در آزمایشگاه تحقیقات گیاهپزشکی اراک استفاده شد. این جدایه که قدرت بیماری زایی بالایی داشت بر روی محیط کشت آگار غذایی به تعداد کافی کشت گردید. پس از ۴۸ ساعت، درون هر ظرف پتری ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته و با یک لام تمیز و ضدعفونی شده با شعله، کلنی‌های باکتری خراشیده و سوسپانسیون حاصل درون یک ارلن استریل جمع‌آوری شد. سپس غلظت سوسپانسیون تهیه شده در حدود ۱۰^۷ سلول باکتری در میلی‌لیتر تنظیم گردید. سوسپانسیون آماده شده باکتری قبل از مرحله گلدهی با استفاده از سمپاش پشتی با فشار، روی برگ‌های لوبيا اسپری شد.

بررسی پایداری و سازگاری ارقام و ژنتیپ‌ها در برنامه‌های اصلاحی اهمیت زیادی دارد. از این‌رو تعداد زیادی از روش‌های آماری به منظور افزایش درک اصلاح‌گرها از اثر متقابل Yates & Cochran (1938) اولین بار تجزیه و تحلیل رگرسیون در صفات ظاهری گیاهان زراعی و تأثیر عوامل محیطی روی آن را شرح دادند، که سپس توسط Finlay & Wilkinson (1963) Eberhart & Russell (1966) اصلاح شدند.

در روش رگرسیونی اثر متقابل به دو جزء رگرسیون و باقیمانده (انحراف از رگرسیون) تجزیه می‌شود. بر اساس مدل رگرسیونی $Y_{ger} = \mu + \alpha_g + \beta_g + \theta \beta_g + p_{ge}$ ابتدا اثرات جمع‌بذر ژنتیپ (α_g) و محیط (β_g) به روش معمول به دست می‌آید و سپس شبیه ژنتیپ θ برآورد می‌شود. در این روش دو عامل شبیه رگرسیون و انحراف از خط رگرسیون به عنوان پارامترهای پایداری استفاده می‌شوند. در روش امی، ابتدا اثرات اصلی جمع‌بذر ژنتیپ × محیط با استفاده از تجزیه واریانس اندازه‌گیری می‌شود و سپس با استفاده از تجزیه مؤلفه‌های اصلی مقدار باقیمانده از مدل تجزیه واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد (Pereira *et al.*, 2009; Gauch & Zobel, 1996) اجزاء فرمول امی به شرح ذیل است:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \sum_{n=1}^N \lambda_n \xi_{in} \eta_{jn} + \delta_{ij}$$

Y_{ij} : عملکرد ژنتیپ آم در محیط زام، μ : میانگین کل، α_i : میانگین ژنتیپ آم در همه محیط‌ها، β_j : ضریب رگرسیون ژنتیپ آم روی شاخص محیطی، λ_n : ریشه مربع مقدار ویژه PCA، ξ_{in} و η_{jn} : مقیاس محیط و ژنتیپ در محور n : شماره محور PCA باقیمانده در مدل و δ_{ij} : باقیمانده مدل می‌باشد.

براساس تجزیه واریانس پیشنهادی مویر اثرات متقابل ژنتیپ × محیط را می‌توان به دو گروه اصلی تقسیم نمود: ۱- حالتی که اثر متقابل ژنتیپ × محیط وجود دارد اما رتبه ژنتیپ‌ها تغییر نمی‌کند. ۲- حالتی که اثر متقابل ژنتیپ × محیط منجر به تغییر رتبه ژنتیپ‌ها در محیط‌های مختلف می‌شود (کراس اور). این وضعیت بدترین نوع اثر متقابل بوده و شرایطی است که تصمیم‌گیری برای محقق را مشکل می‌کند. لذا به صرف وجود اثر متقابل نمی‌توان نوع آن را تشخیص داد. مویر، روشی را ابداع نمود که بهوسیله آن مجموع مربعت اثرات

1- Sum of squares of genotype by environment interaction

2- Sum of squares of heterogeneous variances

3- Sum of squares of imperfect correlation

4- Centro Internacional de Agric平tura Tropical

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Characteristics of genotypes in the experiments

Genotype NO.	Genotype code	Seed type	Plant type	Origin/Source
شماره ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نوع بذر	تیپ بوته	منشا
1	31115	Red	2	CIAT
2	31117	Red	2	CIAT
3	31118	Red	2	CIAT
4	21362	Chitti	3	Iran
5	21313	Chitti	1	CIAT
6	21405	Chitti	1	CIAT
7	21399	Chitti	3	CIAT
8	21400	Chitti	3	CIAT
9	21234	Chitti	1	CIAT
10	21269	Chitti	2	CIAT
11	21275	Chitti	1	CIAT
12	21461	Chitti	3	CIAT
13	31161	Red	2	CIAT
14	21174	Chitti	2	CIAT
15	21334	Chitti	2	CIAT
16	21426	Chitti	2	CIAT
17	21421	Chitti	2	CIAT
18	21320	Chitti	3	CIAT
19	21407	Chitti	2	CIAT
20	21410	Chitti	3	CIAT
21	21417	Chitti	2	CIAT
22	21425	Chitti	3	CIAT
23	21389	Chitti	3	CIAT
24	51103	Cream	1	CIAT
25	CIAT 1 (Check)	Pinto	4	CIAT
26	CIAT 2 (Check)	Pinto	4	CIAT

برای ارزیابی پایداری ژنوتیپ‌های لوبیا در محیط‌های آلوده و غیرآلوده به بیماری از روش رگرسیونی (Finlay & Wilkinson, 1963)، تجزیه اثرات اصلی جمع‌پذیر و اثرات متقابل ضرب‌پذیر (Chahal & Gosal, 2002) و روش مویر (Muir *et al.*, 1992) استفاده گردید. تجزیه واریانس مرکب با نرم افزار SAS نسخه ۹، تجزیه رگرسیون به روش (Hardwick & Wood, 1972) و تجزیه AMMI با نرم افزار Genstat نسخه ۱۲ انجام گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه مرکب ژنوتیپ‌ها بر اساس عملکرد نشان داد اثر سال معنی‌دار نبود اما اثرات اصلی محیط و ژنوتیپ معنی‌دار بودند. اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط و همچنین اجزاء تشکیل‌دهنده آن‌ها یعنی سال × ژنوتیپ، سال × مکان و سال × ژنوتیپ × مکان اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۲). لذا با توجه به اهمیت اثرات متقابل و تأثیر آن‌ها در انتخاب ژنوتیپ‌هایی که علاوه بر مقاومت به بیماری، از نظر پایداری نیز در سطح قابل قبول باشند، اهمیت دارد.

بذرها قبل از کشت به مدت دو دقیقه در هیپوکلریت سدیم تجاری ۱۰ درصد ضدغونی و سپس بهوسیله آب مقطر استریل شسته شدند. هر ژنوتیپ با تراکم ۴۰ بوته در متر مربع در سه خط دو متری با فاصله پشت‌ها از یکدیگر ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۵ سانتی‌متر کشت شد. در زمان رسیدگی فیزیولوژیک ژنوتیپ‌ها، کل بوته‌ها برداشت و پس از خشک شدن و خرمنکوبی، دانه‌ها توزین شد.

مقیاس پیشرفت بیماری با نمره‌دهی از ۱ تا ۵ به شرح ذیل انجام گردید (Webster *et al.*, 1983):

= ۱ بدون علائم (ایمن)، = ۲ لکه‌ها کمتر از ۲۵٪ سطح برگ‌ها را در کمتر از ۱۰٪ برگ‌ها می‌پوشاند (مقاوم)، = ۳ لکه‌ها کمتر از ۲۵٪ سطح برگ‌ها را در ۱۰-۵۰٪ برگ‌ها می‌پوشاند (نیم مقاوم)، = ۴ لکه‌ها بیش از ۲۵٪ سطح برگ‌ها را در ۱۰-۵۰٪ برگ‌ها می‌پوشاند (نیم حساس) و = ۵ لکه‌ها بیش از ۲۵٪ سطح برگ‌ها را در بیش از ۵۰٪ برگ‌ها می‌پوشاند (حساس).

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب عملکرد ژنوتیپ‌های لوبيا در شرایط آلوده و غیرآلوده به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی

Table 2. The combined analysis of variance of bean genotypes yield in presence and absence of common bacterial blight (CBB)

منابع تغییرات	DF	درجه آزادی	SS	مجموع مربعات	MS	میانگین مربعات	F
Year (Y)	1		3212.992	3212.99	.3526 ^{ns}		
Environment (E)	1		2838625.248	2838625.24	311.572**		
Y×E	1		46521.693	46521.69	5.105**		
E×Y×R×M	8		166349.579	20793.69	2.282**		
Genotypes (G)	25		10418600.114	416744.01	45.737**		
Y×G	25		3212069.515	128482.78	14.101**		
E×G	25		373277.770	14931.11	1.638**		
M×Y×G	25		518473.777	20738.95	2.276**		
Error	199		1813211.374	9111.61			

** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۱ و غیر معنی دار

** and ns are significant at the 1% level of probability and no significant, respectively

ضریب رگرسیون نشان داد ژنوتیپ‌های (۱۶)، (۲۱۴۲۶) و (۱۰) ۲۱۴۰۷ علاوه بر مقدار پایین واریانس انحراف از رگرسیون دارای ضریب رگرسیون حدود ۱ می‌باشد. درنهایت در روش رگرسیون با توجه به سه عامل عملکرد، ضریب رگرسیون و انحراف از رگرسیون، ژنوتیپ (۱۹) ۲۱۴۰۷ مناسب‌ترین ژنوتیپ محاسبه شود (نمودار ۱).

در روش امی دو مؤلفه اصلی اول (IPCA1) و دوم (IPCA2) جمعاً ۹۰ درصد تغییرات اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط را توجیه می‌کنند که ۷۸ درصد آن مربوط به مؤلفه اصلی اول است. نمودار دو طرفه عملکرد و مؤلفه اصلی اول (نمودار ۲) نشان می‌دهد ژنوتیپ‌های (۱۹)، (۲۱۴۰۷)، (۲)، (۳۱۱۱۷)، (۲۰)، (۲۱۴۱۰) و (۱۱) ۲۱۲۷۵ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمترین فاصله را با مقدار صفر (مرکز نمودار) داشته و از پایداری بیشتری برخوردار هستند. اما با توجه به عملکرد، ژنوتیپ‌های (۱۹)، (۲۱۴۰۷) و (۱۱) ۲۱۲۷۵ از عملکرد بالا و پایداری مناسب برخوردار هستند که ژنوتیپ (۱۹) ۲۱۴۰۷ دارای پایداری و سازگاری مناسب در محیط‌های مختلف می‌باشد. میزان پایداری ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف آزمایشی به روش امی توسط بسیاری از محققین از جمله (1996) Yan & Zobel (2002) و Gauch & Rajcan (1996) تأکید شده است. Zobel et al. (1988) و (2008) دو Mulusew et al. (1988) و (2008) مؤلفه اصلی اول و دوم امی را مناسب‌ترین روش تفسیر اثر متقابل ژنوتیپ × محیط گزارش کردند. Mulusew et al. (2010). به روش امی، دو ژنوتیپ از میان ۱۶ ژنوتیپ نخود مورد بررسی در حضور بیماری‌های سفیدک دروغی، سفیدک پودری و برق‌زدگی نخود را به عنوان ژنوتیپ‌های پایدار معرفی کردند.

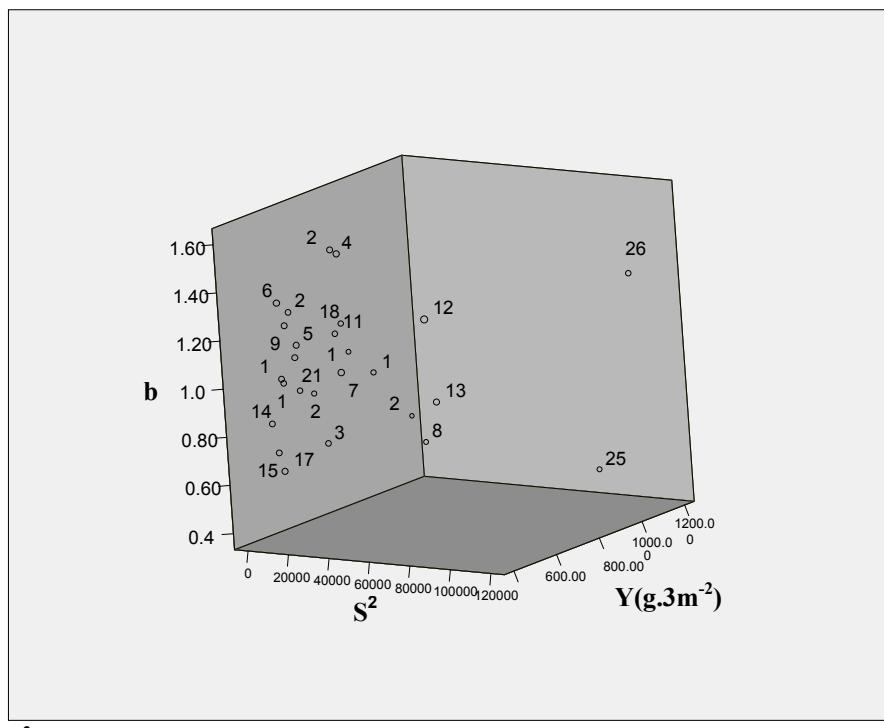
جدول ۳ مجموع مربعات انحراف از میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط (SSGE) را براساس تجزیه مرکب، روش رگرسیون، روش امی و روش مویر نشان می‌دهد. در تجزیه مرکب مجموع مربعات انحراف از میانگین کل (SS کل) را می‌توان به سه بخش اصلی محیط (مجموع سال و مکان)، ژنوتیپ و اثر متقابل سال در محیط تقسیم کرد. بر این اساس ۲۷ درصد تغییرات کل مربوط به محیط، ۵۳ درصد مربوط به ژنوتیپ و ۲۰ درصد از تغییرات کل در تجزیه واریانس مربوط به اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط می‌باشد. این مقدار نشان‌دهنده اهمیت زیاد اثرات متقابل در مجموع واریانس کل است. در روش تجزیه مرکب اثرات متقابل بهصورت کلی بیان می‌شود و ماهیت آن و همچنین جایگاه ژنوتیپ‌ها در اثر متقابل نامشخص است (Khalifa et al., 2013). برای تفسیر اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط، روش‌های رگرسیون، امی و مویر مورد بررسی قرار گرفت. از کل اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط، ۱۰/۲ درصد از طریق روش رگرسیون توجیه می‌گردد. اما در روش امی ۹۰ درصد تغییرات مربوط به اثرات متقابل توجیه می‌گردد (جدول ۳).

بررسی پایداری و سازگاری ژنوتیپ‌ها به روش رگرسیون با درنظر گرفتن سه عامل ضریب رگرسیون (b)، انحراف از رگرسیون (S^2) و عملکرد انجام شد (نمودار ۱). بر اساس ضریب رگرسیون، ژنوتیپ‌های (۱۰)، (۱۹)، (۲۱۴۰۷)، (۲۱۴۲۶)، (۱۶)، (۲۱۳۹۹) و (۷) به ترتیب کمترین فاصله را با ضریب زاویه ۱ داشتند. لذا از نظر پایداری دینامیکی جزء پایدارترین ژنوتیپ‌ها محسوب می‌شوند. اما از نظر عملکرد و ضریب رگرسیون، ژنوتیپ (۱۹) ۲۱۴۰۷ سازگارترین ژنوتیپ بود. بررسی پایداری ژنوتیپ‌ها براساس انحراف از رگرسیون و

جدول ۳- تجزیه واریانس عملکرد در مدل‌های پایداری رگرسیون، امی و مویر در شرایط آلوده و غیرآلوده به بیماری سوختگی باکتریایی عمومی لوبیا

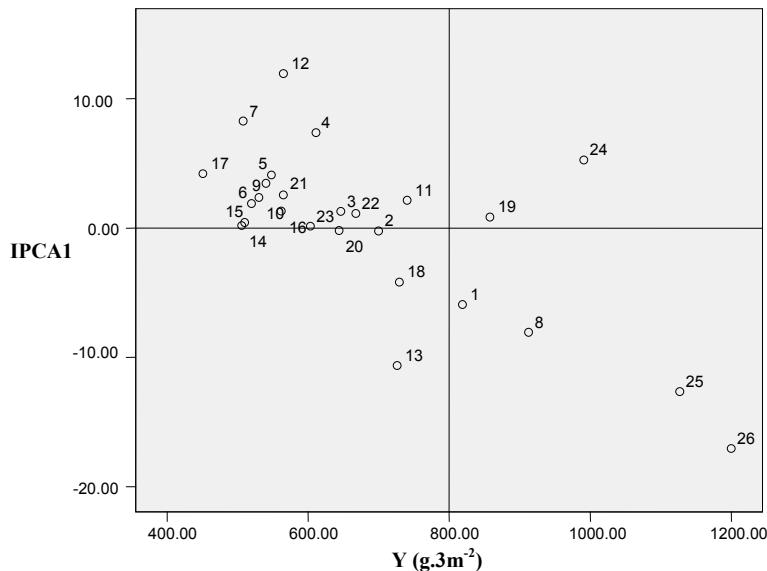
Table 3. Component of variance of bean genotypes yield in presence and absence of CBB

منبع	DF	Sum of squares	SS%
		درصد مجموع مربعات	مجموع مربعات
Variance analysis			
Environment (E) محیط	3	2888360	27
Genotype (G) ژنوتیپ	25	10418600	53
G×E ژنوتیپ×محیط	75	41038210	20
روش رگرسیونی			
G×E ژنوتیپ×محیط	75	41038210	
G×E(Linear) ژنوتیپ×محیط(خطی)	25	4183795	10.2
Residual باقیمانده	50	36854415	89.8
روش امی			
G×E ژنوتیپ×محیط	75	41038210	
IPCA1 مؤلفه اصلی اول	27	32009800	78
IPCA2 مؤلفه اصلی دوم	25	4990240	12
Residual باقیمانده	23	4038170	10
روش مویر			
G×E ژنوتیپ×محیط	75	41038210	
HV واریانس هتروژن	-	820764	20
IC واریانس عدم همبسته	-	3283056	80



نمودار ۱- نمودار سه طرفه میانگین عملکرد (Y)، ضریب رگرسیون (b) و انحراف از رگرسیون (S^2)

Fig. 1. Triplot of mean yield (Y), Regression coefficient (b) and Deviation from regression (S^2)



نمودار ۲- نمودار دو طرفه میانگین عملکرد (Y) و مؤلفه اصلی اول امی (IPCA1)

Fig. 2. Biplot of mean yield (Y) and the first interaction principal component axis

جدول ۴- تجزیه واریانس اثرمتقابل ژنتیک × محیط به روش مویر

Table 4. Muir Analysis of variance of genotypes and environment interaction

Genotype NO.	Genotype code	مجموع مربعات SS				مجموع مربعات SS				مجموع مربعات SS			
		HV	واریانس هتروژن	Grade رتبه	درصد %	IC	واریانس غیر	Grade رتبه	درصد %	GE اثرمتقابل ژنتیک و محیط	Grade رتبه	درصد %	
همبسته													
1	31115	5864	7	2.02	39069	18	3.58	44934	17	3.25			
2	31117	10413	17	3.59	17556	4	1.61	27969	3	2.02			
3	31118	10468	18	3.60	31942	15	2.92	42411	16	3.07			
4	21362	14600	23	5.03	48614	20	4.45	63215	21	4.57			
5	21313	5584	2	1.62	31849	14	2.91	37433	13	2.71			
6	21405	6100	9	2.10	29127	11	2.67	35227	11	2.55			
7	21399	6851	11	2.36	55808	21	5.11	62659	20	4.53			
8	21400	6341	10	2.18	57287	22	5.24	63628	22	4.60			
9	21234	5609	4	1.93	28400	10	2.60	34010	10	2.46			
10	21269	2781	1	2.51	22952	7	2.10	30234	7	2.19			
11	21275	5633	5	1.94	30208	12	2.76	35841	12	2.59			
12	21461	21007	25	7.23	81339	24	7.44	102347	24	7.40			
13	31161	8310	13	2.86	77478	23	7.09	85788	23	6.20			
14	21174	12873	22	4.43	15402	1	1.41	28276	4	2.04			
15	21334	15631	24	5.38	16637	2	1.52	32269	8	2.33			
16	21426	8370	14	2.88	19398	5	1.78	27768	2	2.01			
17	21421	12040	21	4.15	30240	13	2.77	42281	15	3.06			
18	21320	5688	6	1.96	35100	16	3.21	40789	14	2.95			
19	21407	7521	12	2.59	21229	6	1.94	28751	5	2.08			
20	21410	10091	16	3.48	16975	3	1.55	27067	1	1.96			
21	21417	5876	8	2.02	28124	9	2.57	34001	9	2.46			
22	21425	11278	19	3.88	41462	19	3.79	52740	19	3.81			
23	21389	5584	3	1.92	24354	8	2.23	29939	6	2.16			
24	51103	8608	15	2.96	38497	17	3.52	47105	18	3.41			
25	CIAT1	11542	20	3.97	118473	25	10.84	130015	25	9.40			
26	CIAT2	61213	26	21.08	135137	26	12.37	196351	26	14.20			
Total		290388		21.00	1092671		79.00	1383060		100.00			

دارد. یعنی ژنوتیپ‌ها با عملکرد بالا از ناپایداری بیشتری برخوردار هستند. ژنوتیپ‌های شاهد سیات ۱ و سیات ۲ که بیشترین عملکرد را داشتند، ناپایدارترین ژنوتیپ محسوب شدند که تأییدی بر همبستگی مذبور دارد. همبستگی عملکرد با مقیاس بیماری اگرچه معنی دار نبود اما مقدار آن منفی بود. به عبارت دیگر ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا از مقاومت بیشتری برخوردار بودند. (Mulusew *et al.* 2010) همبستگی معنی دار و منفی بین بیماری‌های مهم نخود با عملکرد و شاخص‌های پایداری گزارش کردند.

نمودار دو طرفه میانگین عملکرد و مقیاس بیماری (نمودار ۳) نشان داد ژنوتیپ‌های (۸)، (۱۹)، (۲۰)، (۲۱۴۰۷) و شاهد سیات ۱ و شاهد سیات ۲ که دارای بیشترین عملکرد هستند جزء ژنوتیپ‌های مقاوم محسوب می‌شوند. ژنوتیپ (۲۴) (۵۱۰۳) اگرچه از عملکرد بالایی برخوردار است اما میزان مقاومت آن به بیماری اندک است. همچنان ژنوتیپ‌های مقاومت (۳)، (۲۲) و (۲۱۴۲۵) از مقاومت بالایی برخوردار هستند اما عملکرد آن‌ها از میانگین کمتر است. بررسی رابطه بین مقیاس بیماری و شاخص‌های پایداری نشان داد مقیاس بیماری IPCA2 همبستگی مثبت و معنی دار و با شاخص IPCA1 همبستگی مثبتی داشت. همچنان رابطه مقیاس بیماری با شاخص ضریب رگرسیون (b) همبستگی نشان نداد.

براساس روش مویر، ۲۱ درصد مجموع مربعات اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط، مربوط به واریانس هتروژن و ۷۹ درصد مجموع مربعات اثر متقابل مربوط به اثر متقابل غیرهمبسته می‌باشد (جدوال ۳ و ۴). در مجموع مربعات اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط، ژنوتیپ (۲۰) با ۲۱۴۱۰ درصد کمترین و ژنوتیپ‌های (۱۶) ۲۱۴۲۶ با ۲۰۱ درصد و (۲) ۳۱۱۱۷ با ۲۰۲ درصد در اولویت‌های بعدی قرار دارند. لذا این ژنوتیپ‌ها کمترین تغییرات مربوط به اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط را داشته و از این لحاظ جزء ژنوتیپ‌های پایدار از نوع استاتیک محسوب می‌شوند. تجزیه واریانس اثر متقابل غیرهمبسته و واریانس هتروژن نشان داد کمترین مقدار اثر متقابل غیرهمبسته مربوط به ژنوتیپ‌های (۱۴)، (۲۱۱۷۴)، (۱۵) (۲۱۳۳۴) و (۲۰) (۲۱۴۱۰) بود. از مجموع واریانس هتروژن، کمترین مقادیر مربوط به ژنوتیپ‌های (۱۰)، (۵)، (۲۱۲۶۹) و (۲۳) (۲۱۳۱۳) بود. این وضعیت نشان می‌دهد که مقدار اثر متقابل ژنوتیپ (۲۰) ۲۱۴۱۰ عمدتاً مربوط به واریانس هتروژن است که بر این اساس کمترین اثر متقابل از نوع غیرهمبسته (کراس اور) می‌باشد.

ضرایب همبستگی بین عملکرد، شاخص‌های پایداری و مقیاس بیماری (جدول ۵) نشان داد عملکرد با شاخص‌های اثر متقابل ژنوتیپ × محیط، واریانس هتروژن، واریانس عدم همبسته و انحراف از رگرسیون همبستگی مثبت و معنی دار

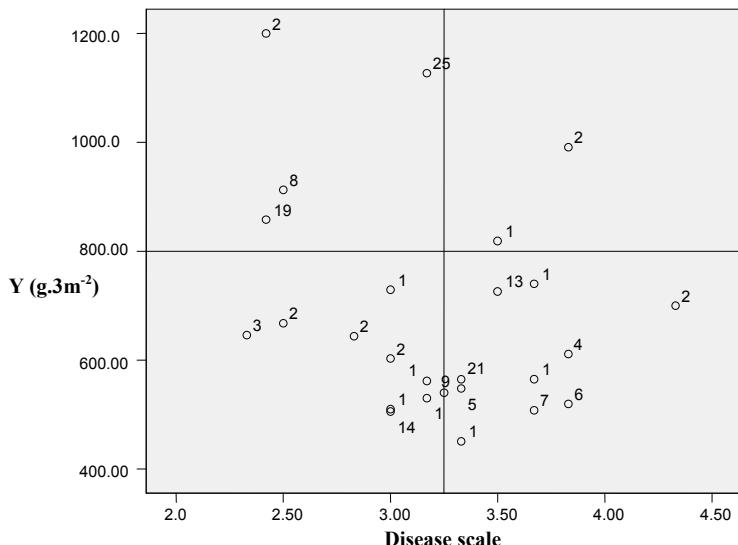
جدول ۵- ضرایب همبستگی بین مقیاس بیماری، عملکرد و شاخص‌های پایداری ژنتیک‌های لوبیا

Table 5. The correlation coefficients between disease scale, yield and stability indexes of bean genotypes

IPCA1 مؤلفه اصلی اول امی	S_i^2 انحراف از رگرسیون	Disease scale مقیاس بیماری	Y عملکرد	b ضریب رگرسیون	GESS اثر متقابل ژنوتیپ × محیط	ICSS واریانس عدم همبسته	HVSS واریانس هتروژن
							واریانس HVSS
						.664**	هتروژن ICSS
					.977**	.807**	همبسته GESS
			1	.065 ^{ns}	.017 ^{ns}	.181 ^{ns}	ضریب رگرسیون
			1	-.221 ^{ns}	.663**	.674**	Y عملکرد
		1	-.252 ^{ns}	.104 ^{ns}	-.167 ^{ns}	-.114 ^{ns}	Disease scale مقیاس بیماری
	1	-.081 ^{ns}	.630**	-.005 ^{ns}	.971**	.992**	S_i^2 انحراف از رگرسیون
1	-.506**	.402*	-.712**	.287 ^{ns}	-.557**	-.556**	IPCA1 مؤلفه اصلی اول امی
.000	.020 ^{ns}	-.501**	.025 ^{ns}	.425*	.152 ^{ns}	.040 ^{ns}	IPCA2 مؤلفه اصلی دوم امی

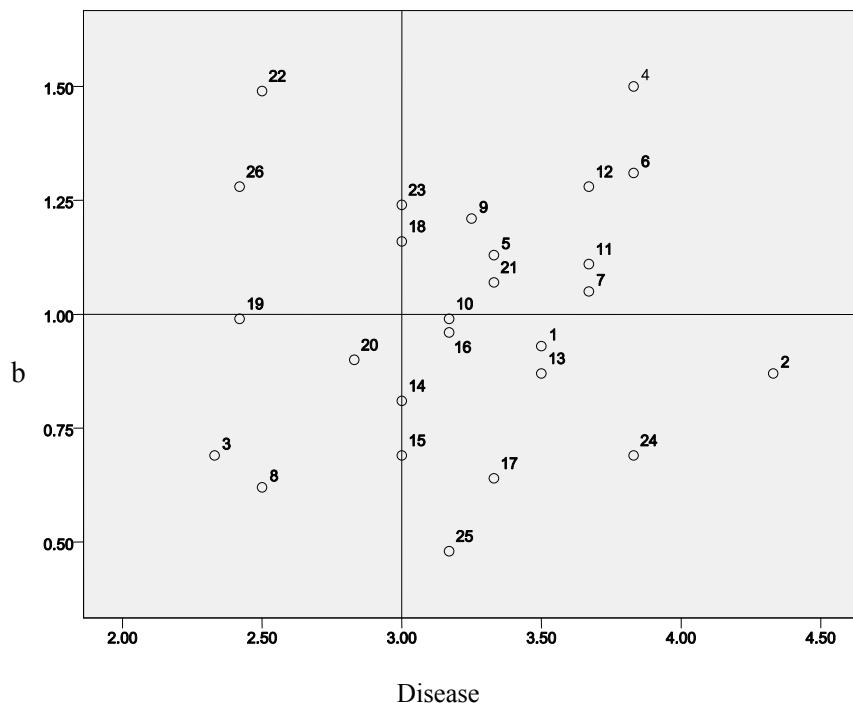
* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰.۱٪ و ۰.۵٪ و غیر معنی دار

**, * and ns are: significant at the 1% and 5% levels of probability and not significant, respectively.



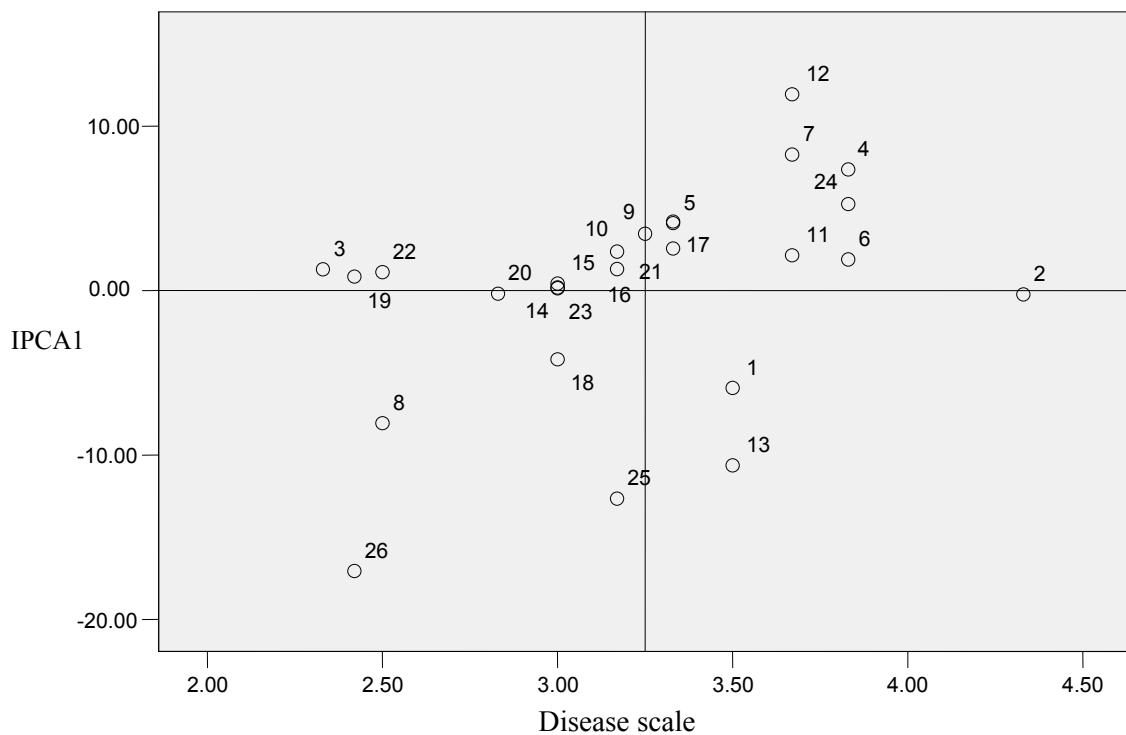
نمودار ۳- نمودار دو طرفه میانگین عملکرد (Y) و مقیاس بیماری (Disease scale)

Fig. 3. Biplot of mean yield (Y) and disease scale



نمودار ۴ - نمودار دو طرفه مقیاس بیماری و ضریب رگرسیون (b)

Fig.4. Biplot of disease scale and regression coefficient (b)



نمودار ۵ - نمودار دو طرفه مقیاس بیماری و مؤلفه اصلی اول امی (IPCA1)

Fig. 5. Biplot of disease scale the first interaction principal component axis (IPCA1)

نتیجه‌گیری

اثرات متقابل ژنوتیپ × محیط به‌ویژه در محیط‌های تنش‌دار از عوامل مهم محدود‌کننده در معروفی ارقام جدید محسوب می‌شود. لذا شناخت نوع و ماهیت اثر متقابل و دستیابی به ارquamی که کمترین واکنش را نسبت به اثرات متقابل نشان دهند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روش‌های مختلفی برای ارزیابی اثرات متقابل معروفی شده است که هریک ماهیت اثر متقابل را از دیدگاه مشخصی بررسی می‌کند. نتایج روش‌های مختلف ممکن است با هم یکسان نباشند، اما بهترین نتیجه زمانی حاصل می‌شود که یک ژنوتیپ با روش‌های مختلف ارزیابی، نتیجه مشابهی از نظر پایداری نشان دهد. در این تحقیق نیز ۲۶ ژنوتیپ لوبيا در شرایط تنش و غیر تنش به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبيا طی دو سال با سه روش مهم پایداری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج ارزیابی‌ها، مقاومت ژنوتیپ (۱۹) ۲۱۴۰۷ به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی را به عنوان ژنوتیپ پایدار معرفی نمود.

رابطه بین پایداری ژنوتیپ‌ها (براساس ضربی رگرسیون) و میزان مقاومت آن‌ها به بیماری سوختگی باکتریایی (نمودار ۴) نشان داد ژنوتیپ‌های (۱۹) ۲۱۴۰۷ و (۲۰) ۲۱۴۱۰ و (۲۱) ۲۱۴۰۷ کمترین مقدار مقیاس خسارت و کمترین فاصله از خط رگرسیون را دارد. لذا این دو ژنوتیپ از نظر پایداری و مقاومت شرایط مناسبی دارند. همچنین بررسی رابطه بین مقیاس بیماری و پایداری براساس شاخص IPCA1 امی (نمودار ۵) نشان داد ژنوتیپ‌های (۳) ۳۱۱۱۸، (۱۹) ۲۱۴۰۷ و (۲۲) ۲۱۴۲۵ ۲۱۴۱۰ و (۲۰) ۲۱۴۲۵ مقیاس بیماری کمتر از (مقاوم) و مقدار IPCA1 نزدیک صفر برخوردار هستند. لذا این ژنوتیپ‌ها از نظر شاخص امی جزء ژنوتیپ‌های پایدار و مقاوم محسوب می‌شوند. در مجموع، ژنوتیپ (۱۹) ۲۱۴۰۷ از نظر همه شاخص‌های پایداری جزء ژنوتیپ پایدار، از نظر عملکرد در گروه ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا و از نظر مقاومت نیز جزء ژنوتیپ‌های مقاوم محسوب می‌شود. لذا می‌توان این ژنوتیپ را به عنوان یک ژنوتیپ پایدار با سازگاری مناسب و مقاوم به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبيا معرفی نمود.

منابع

1. Aggour, A.R., and Goyne, D.P. 1989. Heritability, phenotypic correlations and associations of the common blight disease reactions in beans. Journal of American Society of Horticultural Science 114 (5): 828-833.
2. Chahal, G.S., and Gosai, S.S. 2002. Principles and procedures of plant breeding. Alpha Science. New Dehli. India.
3. Eberhart, S.A., and Russell, W.A. 1966. Stability parameters for comparing varieties. Crop Science 6: 36-40.
4. Finlay, K.W., and Wilkinson, G.N. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. Australian Journal of Agricultural Research 14: 742-754.
5. Gauch, H.G., and Zobel, R.W. 1996. AMMI analysis of yield trials. In: M. S. Kang & H. G. Gauch (Eds.). Genotype by Environment Interaction, Boca Raton, FL: CRC Press. p. 85-120.
6. Gilbertson, R.L., and Maxwell, D.P. 1992. Common bacterial blight of bean. In: H. C. Chaub, J. Kumar, & U.S. Singh (Eds.). Plant Diseases of International Importance. Prentice Hall, New Jersey, P. 18-39.
7. Hardwick, R.C., and Wood, J.T. 1972. Regression methods for studying genotype-environment interactions. Heredity 28: 209-222.
8. Khalifa, G.H., Eljack, A.E., Mohammed, M.I., Elamin, O.M., and Mohamed, E.S. 2013. Yield stability in common bean genotypes (*Phaseolus vulgaris*) in the Sudan. Journal of Plant Breeding and Crop Science 5:203-208.
9. Lak, M.R., Shamsbakhsh, M., and Bahar, M. 2000. Occurrence of common bacterial blight of bean in Markazi province. Proceeding of the 14th Iranian Plant Protection Congress. Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. P. 285 (Abst.)
10. Mohamed, M.F., and Coyne, D.P. 1995. Photoperiod sometimes influences common bacterial blight disease of common beans. Hortscience 30 (3): 551-553.
11. Muir, W., Nyquist, W.E., and Xu, S. 1992. Alternative partitioning of the genotype by environment interaction. Theoretical & Applied Genetics 84: 193-200.

12. Mulusew, F., Tadele, T., and Tesfaye, L. 2008. Genotype environment interactions and stability parameters for grain yield of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes grown in South eastern Ethiopia. International Journal of Sustainable Crop Production 3 (6): 80- 87.
13. Mulusew, F., Tadele, T., Setegn, G., and Bekele, H. 2010. Agronomic performances, disease reaction and yield stability of field pea (*Pisum sativum* L.) genotypes in Bale Highlands, Ethiopia. Australian Journal of Crop Science 4 (4): 238-246.
14. Opio, A.F., Allen, D.J., and Teri, J.M. 1996. Pathogenic variation in *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, the causal agent of common bacterial blight in *Phaseolus* beans. Plant Pathology 45: 1126-1133.
15. Pereira, H.S., Melo, L.C., Faria, L.C., Cabrera Diaz, J.L., Peloso, M.J., Costa, J.G. and Wendland, A. 2009. Stability and adaptability of carioca common bean genotypes in states of the central South Region of Brazil. Crop Breeding and Applied Biotechnology 9: 181-188.
16. Valladares-Sanchez, N.E., Coyne, D.P. and Mumm, R.F. 1983. Inheritance and associations of leaf, external and internal pod reaction to common blight bacterium in *Phaseolus vulgaris*. Journal of American Society of Horticultural Science 108 (2): 272-278.
17. Webster, D.M., Temple, S.R. and Galvez, G.E. 1983. Expression of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in *Phaseolus vulgaris* under tropical conditions. Plant Disease 67 (4): 394-396.
18. Yan, W., and Rajcan, I. 2002. Biplots analysis of the test sites and trait relations of soybean in Ontario. Crop Science 42: 11-20.
19. Yates, F., and Cochran, W.F. 1938. The analysis of groups of experiments. Journal of Agricultural Science 28: 556-580.
20. Zobel, R.W., Wright, M.S. and Gauch, H.G. 1988. Statistical analysis of a yield trial. Agronomy Journal 80: 388-393.

Stability of bean (*Phaseoulus vulgaris* L.) genotypes in common bacterial blight condition using regression analysis, the additive main effects and multiplicative interactions (AMMI) and Muir methods

Dorri¹, H.R., Lak^{2*}, M.R. & Assadi³, B.

1- Member of Scientific Board of Khomein Bean Research Station, Khomein, Iran

2- Member of Scientific Board of Agricultural & Natural Resources Research Center of Markazi Province, Arak, Iran

3- MSc. of Plant Breeding, Khomein Bean Research Station, Khomein, Iran

Received: 26 December 2011

Accepted: 24 June 2014

Abstract

Common bacterial blight (CBB) caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* is a serious disease of bean fields in Iran and the world. Chemical control of CBB is inefficient, therefore the use of resistant genotypes with stability production is the most suitable alternative. Stability and adaptability of 26 bean genotypes yield in the presence and absence of CBB were evaluated in Agricultural Research and Natural Resources Center of Markazi Province, in 2007 and 2008 using regression analysis, the additive main effects and multiplicative interactions (AMMI) and muir methods. The best genotype in regression analysis, based on yield, regression coefficient and deviation from regression was 21407. In AMMI analysis, the first two interaction principal component axes (IPCA1 & IPCA12) explained 90% of the genotype×environment interaction. Biplot of yield mean and IPCA1 showed that genotypes 21407 and 21275 were the most stable with high yield. In muir method, 21% and 79% of the genotype×environment interaction belonged to heterogeneous variance (HV) and imperfect correlation (IC), respectively. In this method the genotype 21410 had the least total sum of squares of genotype × environment interaction, so it was the most stable genotype. According to all results, the best genotype was 21407 based on stability, yield and resistant to CBB.

Key words: AMMI, Bean, Muir, Regression, Stability

* Corresponding Author: rezalak2000@yahoo.com, Tel: 0861-3675571-3

بررسی اثرات دورکنندگی انسانس گیاهان اسطوخودوس و آویشن‌شیرازی روی سوک چهار نقطه‌ای جبوهات و ارتباط آن با ترکیبات تشکیل‌دهنده انسانس‌ها

زهرا گلستانی کلات^۱، غلامحسین مروج^{۲*} و مجید عزیزی ارانی^۳

- ۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
 ۲- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
 ۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۵/۲۰

چکیده

در دو دهه گذشته تلاش‌های قابل توجه در انتخاب گیاهان مناسب جهت تولید و معرفی حشره‌کش‌های گیاهی جدید انجام شده است. در بررسی حاضر اثر دورکنندگی انسانس گیاهان اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) و آویشن‌شیرازی (*Zataria multiflora*) روی حشرات کامل سوک چهار نقطه‌ای جبوهات *Callosobruchus maculatus* مورد بررسی قرار گرفت. انسانس‌ها به روش نقطیر با آب استخراج شدند. آزمایشات در شرایط دمایی 30 ± 1 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و تاریکی انجام گرفت. نتایج نشان داد که انسانس اسطوخودوس نسبت به آویشن‌شیرازی اثر دورکنندگی بیشتر داشت. همچنان میزان دورکنندگی هر دو انسانس روی حشرات نزدیک بود. میزان دورکنندگی علیه حشرات نزد اثر غلظت‌های ۱۷/۶۹ و ۳۰/۷۷ میکروگرم بر لیتر از انسانس‌های اسطوخودوس و آویشن‌شیرازی 30 ± 1 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و تاریکی بهترین نتایج را نشان داد. همچنان دورکنندگی علیه حشرات ماده در اثر غلظت‌های ۲۳/۰۸ و ۳۰/۷۷ میکروگرم بر لیتر از انسانس‌های اسطوخودوس و آویشن‌شیرازی به ترتیب معادل ۷۶/۸۰ و ۶۸/۴۰ درصد بود. آنالیز شیمیایی انسانس‌ها توسط دستگاه GC-MS نشان داد که ترکیبات اصلی انسانس اسطوخودوس، لینالول، ۱، ۸-سینئول، روزفوران اپوکساید، متنون، ایزومنتوول و ترانس-دی‌هیدروکاربون و ترکیبات اصلی انسانس آویشن‌شیرازی تیمول، لینالول و پارا-سیمین بودند. با توجه به نتایج این بررسی به نظر می‌رسد، انسانس گیاهان مذکور خصوصاً گیاه اسطوخودوس جهت حفاظت محصولات خاصیت دورکنندگی مناسبی علیه سوک چهار نقطه‌ای جبوهات داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: انسانس‌های گیاهی، حفاظت محصولات انباری، کروماتوگرام، GC-MS

حشره‌کش با منشأ گیاهی جلب شده است. از خواص مطلوب این ترکیبات، اختصاصی بودن آن‌ها برای آفات، کاهش اثرات سوء زیست محیطی و سمتی کمتر روی انسان و موجودات مفید است. این ترکیبات معمولاً روی آفات مقاومت کمتر ایجاد می‌کنند و از طرف دیگر از لحاظ اقتصادی مقرنون به صرفه می‌باشند (Iqbal, 2005). انسانس‌های گیاهی مواد شناخته‌شده‌ای هستند که روی حشرات خصوصاً حشرات آفت انباری مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. گزارش‌های متعدد نشان می‌دهد که مخلوط کردن مواد انباری با انسانس برخی گیاهان دارویی و معطر باعث دورشدن حشرات کامل خانواده Bruchidae و نیز کاهش میزان خسارت می‌گردد (Papachristos & Stamopoulos, 2002; Shakarami et al., 2005; Negahban & Moharramipour, 2006; Ogendo et al., 2008).

مقدمه

سوک چهار نقطه‌ای جبوهات *Callosobruchus maculatus* (F.) از مهم‌ترین آفات انباری جبوهات به‌ویژه لوپیاچشم بلبلی (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) در آسیا و آفریقا است که در سراسر مناطق استوایی و نیمه استوایی پراکنده است. برای کنترل این آفت و سایر آفات انباری، بیشتر از سومون تدخینی استفاده می‌شود که مشکلاتی از جمله بروز مقاومت، آلودگی‌های زیستمحیطی و ایجاد مسمومیت در انسان و سایر موجودات غیر هدف را به دنبال دارد (Talukder & Howse, 1995; Lee et al., 2001; Talukder et al., 2002). با توجه به این مشکلات، توجه جامعه جهانی به سمت توسعه استراتژی‌های جایگزین و تولید ترکیبات جدید

*نویسنده مسئول: Moravej@ferdowsi.um.ac.ir

آزمایشات زیست‌سنجدی ۱- دورکنندگی انسان‌ها

بر اساس روش (Fields *et al.* 2001) با اندکی تغییرات، در دو سمت یک ظرف پلاستیکی درپوش‌دار به حجم ۱۳۰ میلی‌لیتر دو سوراخ تعییه شد. هر سوراخ به کمک یک لوله پلاستیکی به قطر یک و طول سه سانتی‌متر به یک ظرف پلاستیکی مشابه دیگر متصل شد. بهمنظور یافتن غلظت‌های مناسب، آزمایشات مقدماتی انجام گرفت. انتخاب غلظت‌ها بر اساس غلظت‌های به کار رفته در آزمایشات بررسی سمیت تنفسی انسان‌های مذکور و در مقادیر زیر کشندگی بود (Golestani Kalat *et al.*, 2011). از انسان آویشن‌شیرازی مقادیر ۰/۱، ۱، ۲، ۴، ۷/۳ و ۱۰ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۰/۷۷، ۰/۶۹، ۰/۳۸، ۰/۷۷، ۰/۵۶/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۶۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) برای هر دو جنس نر و ماده و از انسان اسطوخودوس مقادیر ۱/۰، ۰/۴۴، ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۳ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۰/۷۷، ۰/۳۸، ۰/۶۹، ۰/۵۴، ۰/۷۶/۹۲ و ۰/۷۶/۹۲ میکرولیتر بر لیتر هوا) برای جنس نر و مقادیر ۰/۱، ۰/۷، ۱، ۰/۷ و ۰/۳۸ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۰/۷۷، ۰/۶۹، ۰/۳۸ و ۰/۳۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) برای جنس ماده در یک میلی‌لیتر استون حل شده و با بیست دانه لوبیا چشم بلبلی به‌خوبی مخلوط شدند. در شاهد دانه‌های لوبیا چشم بلبلی فقط با یک میلی‌لیتر استون مخلوط شدند. پس از گذشت ده دقیقه و بخار شدن استون، در یکی از ظروف جانبی لوبیا تیمار شده با انسان و در ظرف جانبی دیگر لوبیا تیمار شده با استون ریخته شد. پنجاه حشره کامل ۲۵ حشره نر و ۲۵ حشره ماده ۱ تا ۲ روزه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات که به مدت سه ساعت گرسنه نگه‌داری شده بودند، در ظرف میانی رها شدند. پس از ۲۴ ساعت تعداد حشرات در هر یک از ظروف جانبی (شاهد و تیمار) شمارش و درصد دورکنندگی انسان طبق فرمول $(X-50)/(R)=2$ که در آن X درصد حشرات در ظرف شاهد می‌باشد، محاسبه شد (Owusu, 2001). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد.

۲- روش شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده انسان‌ها

انسان به‌دست آمده پس از آبگیری با سولفات سدیم بدون آب، توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی GC-MS^۳ مدل Varian-star-3400 cx تجزیه شد و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده هر انسان با محاسبه زمان بازداری ترکیبات^۴، اندیس کواتس^۱ و مطالعه طیف‌های جرمی

گیاهان آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس تاکنون هیچ مطالعه‌ای صورت نگرفته است و در این تحقیق این خاصیت و نیز ارتباط آن با ترکیبات تشکیل‌دهنده انسان‌ها برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات از بخش تحقیقات هشره‌شناسی کشاورزی مؤسسه آفات و بیماری‌های گیاهی تهران تهیه و روی دانه‌های لوبیا چشم بلبلی پرورش داده شد. پرورش حشرات و آزمایشات زیست‌سنجدی در شرایط دمایی 30 ± 1 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و تاریکی انجام شد. حشرات کامل در سن ۱ تا ۲ روزه برای انجام آزمایشات زیست‌سنجدی مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایشات برای هر یک از جنس‌های نر و ماده به‌طور جداگانه انجام شد. تشخیص جنس حشرات زیر استریومیکروسکوپ از روی اندازه کلی بدن، طرح رنگ بالپوش‌ها و به‌ویژه رنگ‌آمیزی و اندازه نیم‌حلقه پشتی انتهایی شکم^۱ صورت گرفت (Downhower, 1988).

تهیه انسان‌ها

در اوایل تیر ماه تا اواخر مرداد ماه ۱۳۸۷ و همزمان با گلدهی گیاه اسطوخودوس شاخه‌های گل‌دهنده آن از پردیس دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری و پس از حذف شاخه‌ها، گل‌ها در شرایط سایه و تهییه مناسب به‌مدت سه روز خشک شدند. گل‌های خشک به‌وسیله آسیاب برقی خرد شدند. گیاه آویشن‌شیرازی از بازار محلی در مشهد خریداری و آسیاب گردید. تأثید نامه‌ای علمی و خلوص گیاهان دارویی مركز تحقیقات فردوسی مشهد و بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی صورت گرفت. انسان‌گیری توسط دستگاه کلونجر^۲ گروه باگبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. انسان‌های جمع‌آوری شده به کمک سولفات سدیم آبگیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره با درپوش آلومینیومی در یخچال در دمای چهار درجه سانتیگراد نگه‌داری شدند.

1- Pygidium

2- Clavenger (Labor Müszeripari Müvek Esztergom, Made in Hungary)

اسانس آویشن‌شیرازی بهترتب ۷۶ و ۸۸ درصد و در اثر اسانس اسطوخودوس بهترتب ۹۵ و ۹۳ درصد بود (جدول ۱). نتایج حاصل از آنالیز اسانس‌ها نشان داد که تیمول^۱، لینالول^۲ و پارا-سیمئن^۳ ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس آویشن‌شیرازی و لینالول، ۱، ۸-سینئول^۴، روزفوران اپوکساید^۵ منتون^۶، ایزو منتوول^۷، دی هیدروکارون^۸ ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس اسطوخودوس مورد مطالعه در این تحقیق بودند. در جدول ۲ ترکیبات تشکیل‌دهنده دو اسانس مذکور با مشخصات طیفی مانند زمان بازداری، شاخص کوآتس و درصد نسبی هر ترکیب نشان داده شده است.

با افزایش غلظت، میزان دورکنندگی اسانس‌ها روی هر دو جنس نر و ماده افزایش یافت. اثر غلظت روی میزان دورکنندگی اسانس‌ها در گزارشات محققان مختلف ذکر شده است. چنان‌که، اثر دورکنندگی اسانس درمنه دشتی *Artemisia sieberi* روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *C. maculatus* و *Sitophilus oryzae* شپشه برنج *Tribolium castaneum* (Nahbaneg & Moharramipour, 2006) اسانس *A. princeps* روی *Cinnamomum camphora* و کافور (*A. chinensis*)، اسانس *Ocimum basilicum* روی حشرات کامل شپشه برنج، شپشه قرمز آرد (*Bruchus rufimanus*)، اسانس ریحان (*Liu et al., 2006*)، اسانس *Rhyzopertha dominica* (Ogendo et al., 2008) و سوسک ریز *Cupressus sempervirens* و نوعی اکالیپتوس *Eucalyptus saligna* (Tapondjou et al., 2005) با افزایش غلظت افزایش یافت. مقایسه شیب خطوط رگرسیون در دو اسانس مورد مطالعه نشان داد که شیب خط رگرسیون مربوط به اسانس اسطوخودوس بیشتر از اسانس آویشن‌شیرازی بود و به بیان دیگر، بهارای هر واحد افزایش در غلظت این اسانس، درصد دورکنندگی در مقایسه با اسانس آویشن‌شیرازی بیشتر افزایش یافت. همچنین در هر اسانس، شیب خطوط رگرسیون مربوط

هر یک از اجزای اسانس و بررسی الگوی شکست آن‌ها و مقایسه آن‌ها با طیف‌های استاندارد و با استفاده از منابع معتبر صورت گرفت (Adams, 2001). دستگاه مجهر به ستون موئینه-5 DB با قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر و طول ستون سی متر بود. از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان دو میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. درصد نسبی هر یک از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های کروماتوگرام GC و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی تعیین گردید (شکل‌های ۱ و ۲).

۳-آنالیز داده‌ها

به‌منظور بررسی اثر غلظت اسانس، تجزیه واریانس یک‌طرفی روی داده‌های مربوط به درصد دورکنندگی هر اسانس روی جنس‌های نر و ماده حشره انجام گردید. در صورت معنی‌دار بودن تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در درصد انجام شد. در هر جنس روابط بین درصد دورکنندگی و غلظت اسانس توسط تجزیه رگرسیون خطی مورد بررسی قرار گرفت. آنالیزهای آماری توسط نرم افزار SPSS V.16 انجام شد.

نتایج و بحث

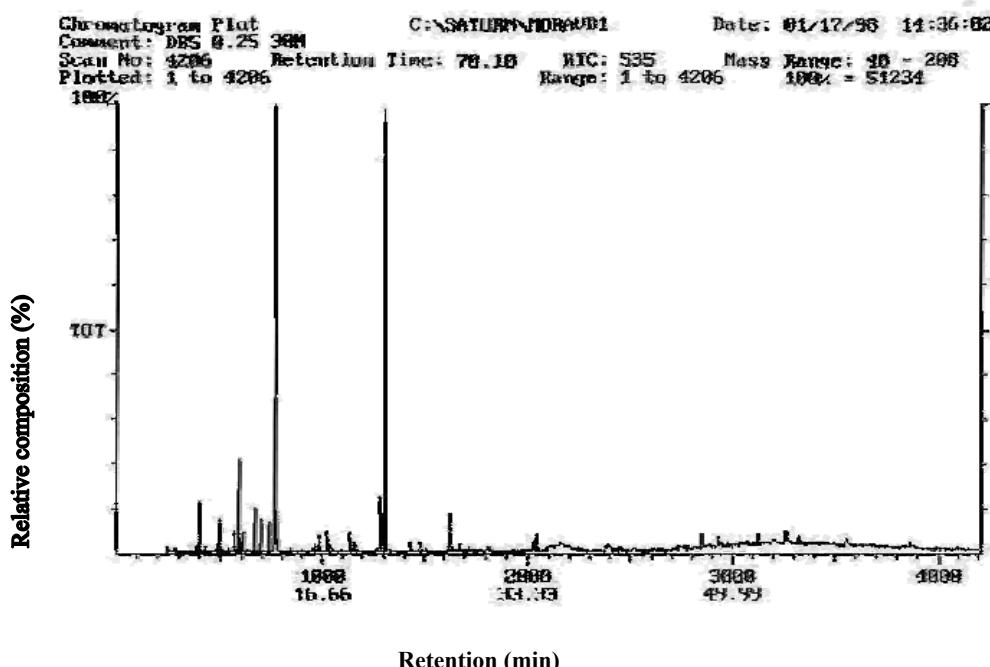
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت اسانس معنی‌دار بود ($P<0.001$). با افزایش غلظت هر یک از اسانس‌ها، درصد دورکنندگی حشرات افزایش یافت. در اسانس آویشن‌شیرازی میزان دورکنندگی در پایین‌ترین غلظت مورد آزمایش ($0/77 \mu\text{L}^{-1}$) روی حشرات ماده $8/4$ درصد و روی حشرات نر $4/4$ درصد بود. اثر دورکنندگی بالاترین غلظت مورد آزمایش از اسانس آویشن‌شیرازی ($76/92 \mu\text{L}^{-1}$) روی حشرات نر صد درصد بود (شکل ۳ A, B). در اسانس اسطوخودوس پایین‌ترین غلظت مورد آزمایش ($0/77 \mu\text{L}^{-1}$) روی حشرات نر و ماده بهترتب $11/2$ و $16/4$ درصد دورکنندگی ایجاد کرد. بیشترین میزان دورکنندگی اسانس مذکور روی حشرات نر $92/8$ درصد (در اثر غلظت $17/69 \mu\text{L}^{-1}$) و روی حشرات ماده $76/8$ درصد (در اثر غلظت $23/08 \mu\text{L}^{-1}$) حاصل شد (شکل ۳ C, D). روابط بین درصد دورکنندگی حشرات و غلظت اسانس‌ها توسط تجزیه رگرسیون بررسی گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که رابطه مثبت و معنی‌دار بین این دو متغیر وجود داشت. ضرایب همبستگی برای حشرات نر و ماده در اثر

- 2- Thymol
- 3- Linalool
- 4- p-Cymene
- 5- 1, 8-Cineol
- 6- Rosefuran epoxide
- 7- Menthone
- 8- Isomenthol
- 9- Dihydro carvone

غلظت 1 mL^{-1} ۲۳/۰۸ برابر ۷۶/۸۰ درصد و روی حشرات نر در غلظت 1 mL^{-1} ۱۷/۶۹ برابر ۹۲/۸۰ درصد بود. بر اساس مقایسه اثرات دورکنندگی اسانس‌ها در غلظت‌های مورد آزمایش در Negahban & Moharramipour (2006)، به نظر می‌رسد که اثر دورکنندگی اسانس درمنه دشته بیشتر از اسانس آویشن‌شیرازی و تقریباً معادل با اسانس اسطوخودوس می‌باشد.

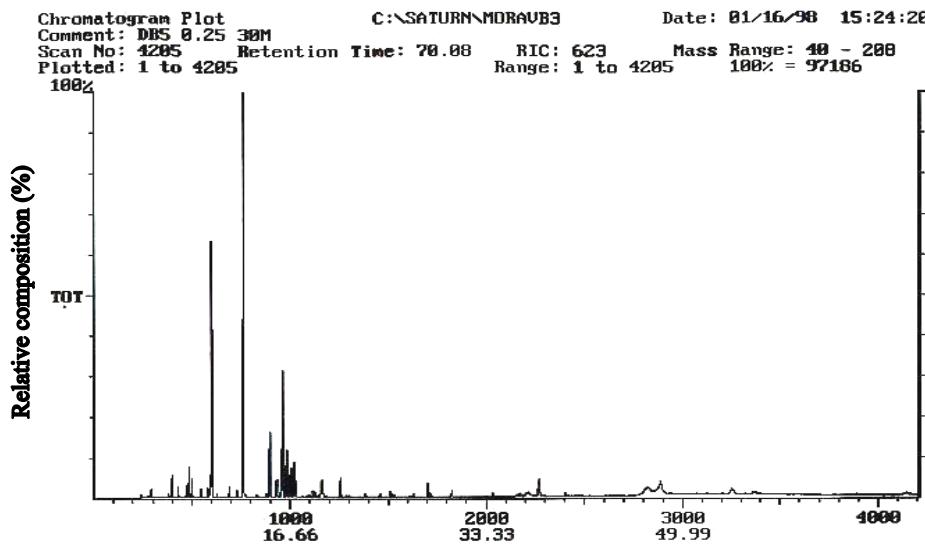
در آنالیز شیمیایی اسانس‌های آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف مشخص شد که اجزای اصلی اسانس آویشن شیرازی شامل تیمول، لینالول و پارا-سیمن و اجزای اصلی اسانس اسطوخودوس شامل لینالول، ۱-سینئول، منتون، ایزو منتوول، دی‌هیدروکاروون و روزفوران اپوکساید بود (شکل ۱ و ۲). جدول ۲ که اثرات زیست شناسی متنوع از جمله دورکنندگی برخی از آن‌ها روی حشرات توسط تعدادی از محققان مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است.

به حشرات نر بیشتر از حشرات ماده بود و این نیز بدان معنی است که در حشرات نر در مقایسه با افراد ماده، بهازای هر واحد افزایش در غلظت اسانس، درصد دورکنندگی افزایش بیشتر نشان می‌دهد. به عبارت دیگر حساسیت حشرات نر نسبت به حشرات ماده به اثر دورکنندگی اسانس‌ها بیشتر می‌باشد. این تفاوت حساسیت توسط برخی محققان نیز گزارش شده است. چنان‌که Moravvej et al. (2011) نشان دادند که حشرات نر شپشه قرمز آرد در مقایسه با حشرات ماده نسبت به اسانس‌های هل (*Ellettaria cardamomum* (L.) و زیره سیاه (*Bunium persicum* (Boiss.) طبق گزارشات Negahban & Moharramipour (2006)، درصد دورکنندگی اسانس درمنه دشته در غلظت 1 mL^{-1} روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای جبویات بیش از هشتاد درصد بود. در تحقیق حاضر اسانس آویشن‌شیرازی در غلظت 1 mL^{-1} ۳۰/۷۷ روی حشرات ماده ۶۸/۴۰ درصد و روی حشرات نر ۷۷/۶۰ درصد دورکنندگی داشت. میزان دورکنندگی اسانس اسطوخودوس روی حشرات ماده در



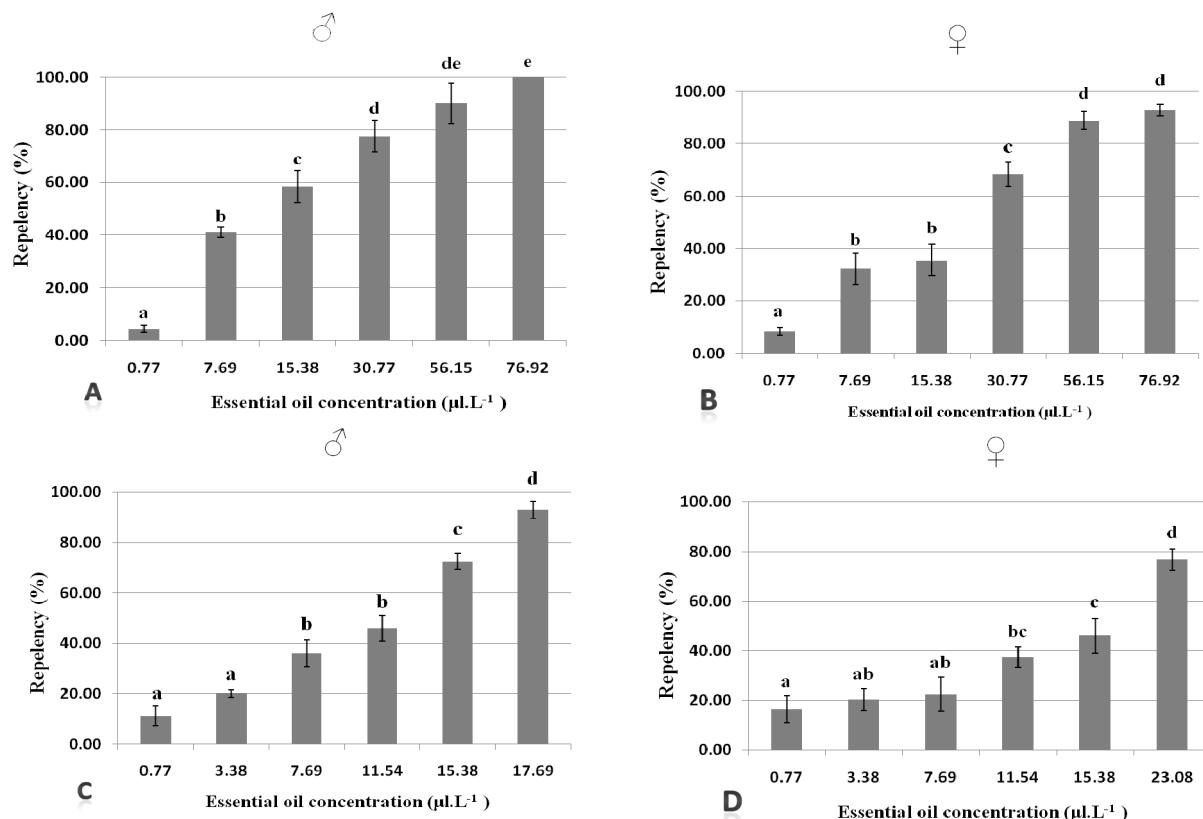
شکل ۱- کروماتوگرام اسانس آویشن‌شیرازی *Zataria multiflora* در گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد در سال ۱۳۸۷ (عکس اصلی)

Fig. 1. Chromatogram of *Zataria multiflora* essential oil analyzed by GC-MS apparatus in Department of Medical Chemistry, School of Pharmacology, Mashhad University of Medical Sciences in 2009



شکل ۲- کروماتوگرام اسانس اسطوخودوس آنالیز شده با دستگاه GC-MS در گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد در سال ۱۳۸۷ (عکس اصلی)

Fig. 2. Chromatogram of *Lavandula angustifolia* essential oil analyzed by GC-MS apparatus in Department of Medical Chemistry, School of Pharmacology, Mashhad University of Medical Sciences in 2009



شکل ۳- درصد دورکنندگی اسانس‌های اویشن‌شیرازی (A, B) و اسطوخودوس (C, D) روی حشرات کامل نر و ماده در غلظت‌های مختلف پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی

Fig. 3. Repellency percent (Mean \pm SE, n=5) of male and female of *Callosobruchus maculatus* exposed for 24 h to different concentrations of *Zataria multiflora* (A, B) and *Lavandula angustifolia* (C, D) essentials oils

جدول ۱- نتایج تجزیه رگرسیون بین میزان دورکنندگی (%) و غلظت (μL^{-1}) اسانس‌های آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس روی حشرات
کامل نر و ماده *

Table 1. Regression analysis between repellency (%) and concentration (μL^{-1}) of *Zataria multiflora* and *Lavandula angustifolia* essential oils on male and female adults of *C. maculatus*.

P	F	ضریب همبستگی Coefficient of determination	خطای معیار+شیب رگرسیون Regression Slope ($\pm\text{SE}$)	تعداد حشرات Number of insects	جنس حشره Sex	منبع اسانس Essential oil
=0.004	36.79	0.88	1.09±0.18	750	ماده Female	آویشن‌شیرازی
=0.015	16.84	0.76	1.07±0.26	750	نر Male	<i>Zataria multiflora</i>
<0.001	64.71	0.93	2.83±0.35	750	ماده Female	اسطوخودوس
<0.001	92.30	0.95	4.75±0.48	750	نر Male	<i>Lavandula angustifolia</i>

* اسانس در استون حل گردید و پس از مخلوط کردن با بیست عدد دانه لوبیا چشم بلبلی به ظروف پلاستیکی به حجم ۱۳۰ سانتی‌متر مکعب منتقل شد.
¥ Essential oils were dissolved in acetone, mixed with 20 cowpea seeds and transferred to 130 cm³ polyethylene cylinders.

جدول ۲- آنالیز شیمیایی اسانس‌های آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس جمع‌آوری شده در سال ۱۳۸۷ از مشهد

Table 2. Chemical constituents of *Lavandula angustifolia* and *Zataria multiflora* essential oils collected from Mashhad region in 2009

درصد نسبی Relative percent	شاخص کوآتس Kováts index	زمان بازداری Retention time	ترکیب Constituents	منبع اسانس Essential oil
55.00	1291	21.73	Thymol	آویشن‌شیرازی
37.80	1094	12.75	Linalool	<i>Zataria multiflora</i>
7.20	1025	9.76	p-Cymene	
42.80	1094	12.75	Linalool	
23.40	1031	10.06	1,8-Cineol	اسطوخودوس
14.00	1175	16.06	Rosefuran epoxide	
6.80	1150	14.98	Menthone	<i>Lavandula angustifolia</i>
5.20	1183	16.39	Isomenthol	
4.30	1200	17.40	Dihydro carvone (trans)	

در غلظت‌های زیرکشندگی، سمتی تنفسی و تماسی بالای آن‌ها علیه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و نیز ایمنی اسانس‌ها برای انسان و محیط زیست، استفاده از این ترکیبات در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات انباری به عنوان جایگزین مناسب سوم شیمیایی مصنوعی توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر بخشی از پایان نامه نگارنده اول می‌باشد که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به جهت حمایت‌های مالی کمال تشكر را می‌نماییم. همچنین از آقای دکتر حسن‌زاده خیاط به خاطر همکاری در آنالیز اسانس‌ها و آقای مهندس هاتفی به خاطر همکاری در تهیه لوازم مورد نیاز آزمایش‌ها نهایت سپاسگزاری را داریم.

در تحقیقات Obeng-Ofori *et al.* (1997) -۸،۱ سینثیول ترکیب اصلی تشکیل‌دهنده اسانس *Ocimum kenyense* (Ayobangira) به عنوان مونوتربنی با اثر دورکنندگی بالا روی حشرات کامل شپشه گندم *S. zeamais*، شپشه ذرت *S. granarius* و شپشه قرمز آرد و *Prostephanus truncatus* معرفی گردید. پارا-سیمن (سیمول^۱) ترکیبی با خاصیت دورکنندگی روی حشرات کامل شپشه ذرت و شپشه قرمز آرد گزارش شده است (Tapondjou *et al.*, 2005). بنابراین، بر اساس نتایج مذکور به نظر می‌رسد اثر دورکنندگی اسانس‌های مورد بررسی در این تحقیق ناشی از ترکیبات مونوتربنی تشکیل‌دهنده آن‌ها باشد. با توجه به میزان دورکنندگی مطلوب اسانس‌های آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس

1- Cymol

منابع

1. Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil Components by gas chromatography/quadropole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
2. Brown, L., and Downhower, J.F. 1988. Analyses in Behavioral Ecology: A Manual of Lab and Field. Sinauer Associates.
3. Fields, P.G., Xie, Y.S., and Hou, X., 2001. Repellent effect of pea (*Pisum sativum*) fractions against stored-product insects. Journal of Stored Products Research 37: 359-370.
4. Golestani Kalat, Z., Moravvej, Gh., Azizi Arani, M., and Hatefi, S. 2011. Fumigant toxicity of the essential oils from *Lavandula angustifolia* Mill and *Zataria multiflora* Boiss on cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Plant Protection 25 (3): 286-295. (In Persian with English Summary).
5. Iqbal, J. 2005. Growth inhibiting and deterrent effects of plant extracts on major insects of stored grains Arid Agriculture. Ph.D Thesis, Rawalpindi University of Pakistan.
6. Lee, B.H., Choi, W.S., Lee, S.E., and Park, B.S. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection 20: 317-320.
7. Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H., and Shen, Y.F. 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Bioresource Technology 97: 1969-1973.
8. Moravvej, Gh., Of-Shahraki, Z., and Azizi Arani, M. 2011. Contact and repellent activity of *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. and *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtsch. Oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults (Coleoptera: Tenebrionidae). Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants 27 (2): 224-238. (In Persian with English Summary).
9. Negahban, M., and Moharrampour, S. 2006. Repellent activity and persistence of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser on three stored-product insect species. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants 22(4): 293-302. In Persian with English Summary.
10. Obeng-Ofori, D., Reichmuth, C., Bekele, A.J., and Hassanali, A. 1997. Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. Journal of Applied Entomology 121 (4): 237-243.
11. Ogendo, J.O., Kostyukovsky, M., Ravid, U., Matasyoh, J.C., Deng, A.L., Omolo, E.O., Kariuki, S.T., and Shaaya, E. 2008. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. Journal of Stored Products Research 44: 328-334.
12. Owusu, E.O. 2001. Effect of some Ghanaian plant components on control of two stored product insect pests of cereals. Journal of Stored Products Research 37 (1): 85-91.
13. Papachristos, D.P., and Stamopoulos, D.C. 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapors on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research 38: 117-128.
14. Shakarami, J., Kamali, K., and Moharrampour, S. 2005. Fumigant toxicity and repellency of essential oil of *Salvia bracteata* on four species of stored pest. Journal of Entomological Society of Iran 24 (2): 35-50. (In Persian with English Summary).
15. Shakarami, J., Kamali, K., Moharrampour, S., and Meshkatassadat, M.H. 2004. Fumigant toxicity and repellency of essential oil of *Artemisia aucheri* on four species of stored pest. Journal of Plant Pests and Diseases 71 (2): 61-75. (In Persian with English Summary).
16. Talukder, F.A., and Howse, P.E. 1995. Evaluation of *Aphananixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum*. Journal of Stored Products Research 31 (1): 55-61.
17. Tapondjou, L.A., Adler, C., Bouda, H., and Fontem, D.A. 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of Stored Products Research 38 (4): 395-402.
18. Tapondjou, L.A., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H., and Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of Cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* du Val. Journal of Stored Products Research 41: 91-102.

**Repellent effects of the essential oils of *Lavandula angustifolia* Mill. and
Zataria multiflora Boiss. on
Callosobruchus maculatus (F.) (Coleoptera: Bruchidae) with reference to
their chemical compositions**

Golestani kalat¹, Z., Moravvej^{2*}, G. & Azizi Arani³, M.

1- MSc. Student, Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2- Assistant Professor, Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
3- Associate Professor, Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Received: 16 June 2012

Accepted: 11 August 2014

Abstract

In last two decades, considerable attempts have been made to introduce new botanical based insecticides. In this study, repellent effects of the essential oils taken from *Lavandula angustifolia* and *Zataria multiflora* on *Callosobruchus maculatus* adults were evaluated. The essential oils were extracted using a Clevenger apparatus. Bioassays were conducted under $30\pm1^{\circ}\text{C}$, $60\pm5\%$ RH and dark condition. The results indicated that *L. angustifolia* oil was more repellent than *Z. multiflora* oil. Also repellent effects of both oils on males were greater than those on females. The repellent activity rate of was % on adults essential oil at concentration of males and females. The essential oils analysis by GC-MS showed that the main compounds of *L. angustifolia* oil were linalool, 1,8-cineol, rosefuran epoxide, menthone, isomenthol and dihydro carvone (trans) and those of *Z. multiflora* oil were thymol, linalool and *p*-cymene. According to these results, it seems that these two essential oils especially *L. angustifolia* oil are potentially good candidates for protection of stored products against *C. maculatus*.

Key words: Essential oils, Stored product protection, Chromatogram, GC-MS

* Corresponding Author: moravej@ferdowsi.um.ac.ir

ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و ممانعت‌کنندگی فیلم خوراکی بر پایه ایزوله پروتئین خلر (*Lathyrus sativus*) با استفاده از روش سطح پاسخ

امین حسین‌زاده^۱، الناز میلانی^{۲*}، امیرحسین الهامی‌راد^۳ و محمدحسین حداد خداپرست^۴

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

۲- استادیار گروه فرآوری مواد غذایی پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاددانشگاهی، مشهد، ایران

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

۴- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۲۵

چکیده

جبوهات، منابع غنی از پروتئین بوده و گزینه مطلوب برای تهیه فیلم‌های پروتئینی به شمار می‌آیند. در این پژوهش از طرح مرکب مرکزی، بهمنظور بررسی تأثیر همزمان؛ نسبت ایزوله پروتئین خلر (۲۰/۱ درصد)، گلیسرول (۷/۰۵ درصد) و اسید اولئیک (۰/۲ درصد) بر خصوصیات فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین خلر نظری میزان ضخامت، دانسیته، درصد مواد محلول در آب، اسید و قلیا، نفوذپذیری به بخار آب و اکسیژن، استفاده شد. نتایج پژوهش نشان داد؛ نفوذپذیری به بخار آب با افزایش غلظت پروتئین و گلیسرول به طور معنی‌داری افزایش و با افزایش غلظت اسید اولئیک کاهش یافت. حلالیت در آب و اسید با افزایش میزان پروتئین کاهش و با افزایش میزان گلیسرول و اسید اولئیک افزایش نشان داد ($P<0.05$). نتایج بهینه‌سازی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین خلر حاکی از این است که برای داشتن یک فیلم بهینه با دارابودن ویژگی‌های نظری حداقل ضخامت برابر با 0.087 mm میلیمتر، حداقل دانسیته برابر با ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) $486/486\text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{pa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ، حداقل نفوذپذیری به بخار آب برابر با $1/42\times 10^{-9}$ درصد (عدد پراکسید) معادل $24/72$ ، حداقل حلالیت در آب و اسید به ترتیب برابر با $53/52$ درصد و $46/64$ درصد ضروری است، پارامترهای غلظت ایزوله پروتئین خلر $2/64$ درصد، غلظت گلیسرول $5/5$ درصد و غلظت اسید اولئیک $0/087$ درصد باشد.

واژه‌های کلیدی: فیلم خوراکی، ایزوله پروتئین، خلر، خواص فیزیکو‌شیمیایی، روش سطح پاسخ

مقدمه

پروتئین‌های مورد استفاده در پوشش‌های خوراکی شامل گلوتن گندم، کلژن، زئین ذرت، کازائین و پروتئین آب پنیر می‌باشند و لیپیدهای مناسب برای استفاده در فیلم‌ها و پوشش‌ها شامل موم‌ها، اسیل گلیسرول و اسیدهای چرب می‌باشند (Kester & Fennema, 1986). در مواد هتروژن همیشه انتقال رطوبت از بخش مرطوب به خشک انجام می‌گیرد. حتی اگر آب موجود در فرآورده مرطوب‌تر به صورت جامد باشد این امر به صورت انتقال مایع یا بخار انجام می‌گیرد. این پدیده در مواد غذایی منجمد مثل بستنی قیفی مشاهده می‌شود (Morillon et al., 2002). انتقال رطوبت یکی از فرآیندهای انتقال جرم است و به دو صورت انجام می‌پذیرد یکی بین ماده غذایی و محیط پیرامون آن و دیگری بین اجزای داخل بسته‌بندی که دارای میزان رطوبت متفاوتی باشند؛ نظری سوپ آمده و غیره که در نتیجه این عمل سبب افزایش کیفیت فرآورده می‌گردد. با جذب رطوبت ماده غذایی از محیط و

خلر یا سنتگینک (*Lathyrus sativus*) گیاهی است یکساله از خانواده بقولات (نوعی ماشک)، پاییزه و بومی آسیای جنوب غربی، که در شرایط نامناسب به خوبی رشد و نمو می‌نماید. دانه خلر، دارای میزان پروتئین بالا (حدود ۲۸/۴ - ۲۵/۶ درصد) بوده و در برخی از کشورهای آسیایی و آفریقایی مثل هند و اتیوپی در زمان قحطی به عنوان بخشی از جیره غذایی Jayan et al., 2004; Rotter et al., 1991) مصرف می‌شود (Arthan et al., 2009).

جهت تهیه فیلم‌های خوراکی بیشتر از بیوپلیمرها شامل پروتئین، پلی ساکاریدها، لیپیدها و ترکیبات آن‌ها استفاده می‌شود (Arthan et al., 2009).

به مدت یک ساعت بر روی همزن مغناطیسی در دمای آزمایشگاه مخلوط گردید. پس از این مرحله مخلوط در سرعت ۷۴۰۰ دور در دقیقه و زمان ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و رسوب ته فالکون که آرد چربی‌گیری شده بود، درون آون تحت خلا در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت خشک گردید. در ادامه فرآیند استخراج ایزوله پروتئینی، آرد چربی‌گیری شده در دمای آزمایشگاه به میزان ۱ به ۱۰ با آب مقطر مخلوط و هم‌زمان هم زده شد. سپس pH مخلوط به آهستگی توسط سود یک نرمال، به ۱۰/۵ رسانده شد. مخلوط به مدت ۴۵ دقیقه در این شرایط هم زده شد، سپس در ۷۴۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و مایع شفاف رویی برای مرحله بعد جمع‌آوری گردید. محلول قلیایی حاصل از مرحله قبل توسط همزن مغناطیسی هم زده شد و توسط اسید کلریدریک ۱ نرمال pH به ۴/۸ (نقطه ایزاولکتریک پروتئین دانه خلر) رسانده شد (Xu Shan Shan *et al.*, 2006). در این مرحله با تغییر pH از ۱۰/۵ به ۴/۸ رنگ محلول به تدریج از قهوه‌ای به سفید شیری متامیل شد. سپس محلول شیری رنگ در برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و رسوبات پروتئینی حاصل از مرحله قبل با pH اسیدی، جدا شد و طی دو مرحله توسط آب مقطر و سود ۱/۰ نرمال به pH خنثی رسانیده شدند، جهت شستشوی کامل، در هر مرحله عملیات سانتریفیوژ در ۷۴۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه اعمال و مایع رویی دور ریخته شد. رسوبات در آن تحت خلا با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

تهیه فیلم خوراکی از ایزوله پروتئینی خلر
برای تهیه فیلم خوراکی، درصدهای مختلف ایزوله پروتئین خلر (۲ تا ۱۰ درصد)، گلیسرول (۰/۵ تا ۰/۰ درصد) و اسید اولئیک (۰ تا ۲ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پروتئین توزین شده درون ۷۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۲ دقیقه مخلوط گردید؛ سپس گلیسرول به آن افزوده شد. جهت انحلال کامل، به مدت ۱ دقیقه مخلوط را هم زده و سپس توسط سود ۱/۰ نرمال، pH محلول به ۱۰/۵ رسانده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد بر روی بن ماری شیکردار قرار گرفت تا محلول تولید فیلم حاصل گردد. برای تهیه فیلم حاوی اسید اولئیک، پس از پایان این مرحله اسید اولئیک، بلافصله به محلول داغ اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه توسط هوموژنایزر اولتراتراکس ساخت شرکت یورواستار در ۱۶۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه یکنواخت گردید. پس از سرد شدن، محلول بر روی قالب فویل آلومینیوم تراز شده ریخته شد. قالب‌های حاوی محلول فیلم به مدت ۲۴ ساعت در دمای

افزایش فعالیت آب، انواع فساد اعم از میکروبی، شیمیایی، فیزیکی و آنزیمی آغاز می‌شود، که به‌ویژه در مواد جاذب الرطوبه (هیگروسکوپ) اهمیت بیشتری دارد. بدین منظور تولید یک فیلم خوراکی که دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسبی جهت بسته‌بندی مواد غذایی باشد، دارای اهمیت است. ضخامت و دانسیته فیلم تولیدی جهت افزایش بازار پسندی فراورده حائز اهمیت است، از سوی دیگر انجام یک بسته‌بندی مناسب و درصد مواد محلول در اسید و آب جهت یک بسته‌بندی که در دهان به راحتی حل شده و قابل هضم باشد نیز مطلوب می‌باشد. ممانعت‌کنندگی در برابر رطوبت، بخار آب و گازها در مواد غذایی جهت نگهداری، تازگی، کنترل آلودگی و رشد میکروبی، حفظ ویژگی حسی بسیار مهم است. فیلم‌های خوراکی می‌توانند برای میوه‌های تازه، خشک شده و یا میوه‌های حداقل فرآیند شده به‌منظور افزایش ماندگاری استفاده شوند (Drochta & Johnston., 1997). خاصیت مقاومت در برابر آب برای فیلم‌های خوراکی جهت محافظت از مواد غذایی با فعالیت آب بالا ویژگی مهمی قلمداد می‌گردد. همچنین ممکن است فیلم‌های خوراکی با حلایت بالا جهت نگهداری موادی که می‌خواهند در آب حل شوند مورد استفاده قرار گیرند (A'arabi *et al.*, 2007).

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی شامل اسید کلریدریک، هیدروکسید سدیم، گلیسرول، هگزان نرمال و اسید اولئیک تهیه شده از شرکت مرک آلمان و کلرید کلسیم ساخت شرکت فولکا آلمان بود. تجهیزات مورد استفاده شامل pH متر مدل جن وی ساخت آلمان، همزن مغناطیسی هیتر دار مدل هیدولف آلمان، ترازوی دیجیتال مدل کرن آلمان، آون مدل بایندر و سانتریفیوژ مدل سیگما آلمان مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه ایزوله پروتئین از دانه خلر
مراحل تهیه ایزوله پروتئین خلر بر اساس روش ژو شان – Xu Shan Shan *et al.*, 2006 (انجام گردید). دانه خلر از بازار محلی تهیه شده و سنگ و برگ‌های اضافی و تکه‌های چوبی آن به صورت دستی حذف گردید. دانه‌ها توسط آسیاب صنعتی خشکبار ساخت شرکت توس شکن خراسان آسیاب گردید تا پودر آرد یکنواختی جهت استخراج بهتر پروتئین حاصل شود. جهت حصول دانه‌بندی یکنواخت از الک با مش ۶۰ عبور داده شد.

برای حذف چربی موجود در آرد دانه خلر، از حلّال هگزان استفاده شد. حلّال به میزان ۵ به ۱ به آرد اضافه شده و مخلوط

نمودار تغییرات وزن بر حسب زمان رسم شد تا شیب خط حاصل جهت انجام محاسبات مورد استفاده قرار گیرد. آهنگ انتقال بخار از طریق فرمول ۲ محاسبه شد:

$$WVT = G / t \cdot A \quad (2)$$

که در این معادله WVT : آهنگ انتقال بخار آب ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), A : سطح مقطع شیشه‌ها (m^2), G/t : شیب خط میانگین تغییرات وزن در مدت زمان آزمون است. برای اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب از فرمول ۳ استفاده شد:

$$WVP = WVT \cdot X / P (R_1 - R_2) \quad (3)$$

که در این معادله، WVP : میزان نفوذپذیری به بخار آب ($\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), P : فشار بخار آب خالص در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (Pa), X : ضخامت فیلم (m), R_1 : میزان رطوبت داخل دسیکاتور (۷۵ درصد) و R_2 : میزان رطوبت فضای داخل شیشه‌ها (۰ درصد) می‌باشد (Hosseini et al., 2006).

نفوذپذیری به اکسیژن

نفوذپذیری به اکسیژن به صورت مقایسه‌ای بر اساس اندازه‌گیری مقدار تغییر در عدد پراکسید روغن فاقد آنتی اکسیدان تعیین گردید. در این آزمون مقدار ۱۰ میلی لیتر روغن فاقد آنتی اکسیدان آفتگرددان داخل ظروف شیشه‌ای ریخته شد. در دهانه این ظروف فیلم خوارکی قرار گرفت و به مدت ۴۵ روز در محیطی با رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تأمین رطوبت نسبی از محلول اشباع نیترات کلسیم استفاده شد. بعد از این مدت عدد پروکسید روغن اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورهای غلظت ایزوله پروتئینی خلر، درصد گلیسرول و درصد اسیداولئیک بر ضخامت، دانسیته، مواد محلول در آب، اسید و قلیا، نفوذپذیری به بخار آب فیلم خوارکی اهداف اصلی این پژوهش بودند. روش سطح پاسخ به جهت یافتن حالت بهینه فاکتورها انتخاب شد که نشان‌دهنده‌ی چگونگی تأثیر فاکتورها بر نتایج آزمایش‌هاست. این در حالی است که آثار متقابل فاکتورهای مذبور را نیز در بر می‌گیرد. در این طرح ابتدا بر اساس آزمایش‌های مقدماتی، دامنه‌ی تغییرات فاکتورها برای غلظت ایزوله پروتئین (A) ۲ تا ۱۰ درصد، گلیسرول (B) ۰/۵ تا ۷ درصد و اسید اولئیک (C) ۰ تا ۲ درصد و هر یک در سه سطح انتخاب گردیدند.

از نرم افزار Design Expert 8.01 جهت تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ، استفاده گردید.

آزمایشگاه قرار گرفت تا فیلم‌ها تشکیل شدند. سپس فیلم‌ها از گف قالب جدا شده، در گیسه‌های پلی اتیلنی درب دار و در دمای محیط نگهداری شدند (Xu Shan Shan, 2006).

تعیین ضخامت

ضخامت فیلم خوارکی توسط میکرومتر با دقت ۱/۰۱ میلیمتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در ۵ نقطه پیرامون و یک نقطه در مرکز فیلم انجام گرفت (Meshkani et al., 2011).

اندازه‌گیری دانسیته

برای اندازه‌گیری دانسیته قطعات فیلم در ابعاد 4×1 سانتی‌متر توسط کولیس با دقت ۱/۰۱ میلیمتر اندازه‌گیری و بریده شد و پس از اندازه‌گیری ضخامت میانگین توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۱/۰۰۰۰ گرم توزین شد. مطابق فرمول ۱، از تقسیم جرم بر حجم قطعه فیلم بریده شده می‌توان دانسیته فیلم را اندازه‌گیری کرد.

$$\rho = m / V \quad (1)$$

درصد مواد محلول در آب و اسید و قلیا

در این آزمایش از هر نمونه سه قطعه دایره‌ای شکل به قطر ۴ سانتی‌متر جدا شد و پس از توزین به مدت ۲۴ ساعت در ۵۰ میلی لیتر آب مقطار، اسید کلریدریک ۱ نرمال و سود ۱ نرمال قرار گرفت و در این مدت بر روی دستگاه شیکر با سرعت پایین قرار داده شد و بعد از این مدت فیلم را از آب خارج کرده و پس از خشک شدن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت دوباره توزین شدند و با محاسبه اختلاف وزن درصد حلalیت فیلم در آب اسید و قلیا به دست آمد (Arabi et al., 2007).

نفوذپذیری به بخار آب

اندازه‌گیری نفوذپذیری به بخار آب بر اساس استاندار ASTM E96 (ASTM 2002) شیشه‌های کوچکی با قطر ۱/۳۵ سانتی‌متر انتخاب و درون آن‌ها مقدار ۳ گرم کلرور کلسیم بدون آب ریخته شد و سطح شیشه‌ها توسط نمونه‌های فیلم و بهوسله گیره و کش بسته شد. کلرور کلسیم رطوبت نسبی داخل شیشه را که توسط فیلم بسته شده است را صفر درصد کرد. پس از توزین، کلیه نمونه‌ها داخل دسیکاتور حاوی نمک کلرید سدیم فوق اشباع با رطوبت معادل ۷۵ درصد قرار گرفتند. تغییرات وزن نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۱/۰۰۰۰ گرم اندازه‌گیری شده و

Kokoszka *et al.*,) (P<0.05). بر ضخامت معنی‌دار نبود (2010).

نتایج این مطالعه مشابه نتایج او و همکاران (۲۰۰۵) بر روی افزایش اسید فرولیک بر خصوصیات فیلم تهیه شده از ایزوله پروتئین سویا بود. در پژوهش اخیر ضخامت فیلم‌های تولیدی در دامنه بین ۶۵ تا ۸۰ میکرومتر بود (Ou *et al.*, 2005).

مطابق نتایج گونگا و همکاران (۲۰۰۷) بر روی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین آب پنیر، افزایش درصد ایزوله پروتئین بر روی ضخامت فیلم تهیه شده اثر معنی‌داری (p<0.05) دارد. اما ضخامت فیلم‌های تولیدی مشابه نتایج مابعد که به خاطر تفاوت فرآیند تولید فیلم خوراکی و نوع قالب‌های مورد استفاده بود (Guounga *et al.*, 2007).

درصد مواد محلول در آب و اسید و قلیا همانطور که در جدول ۱، مشاهده می‌شود، عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل: درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول، درصد اسید اولئیک، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول و عبارات اثر متقابل درصد ایزوله پروتئین خلر - درصد گلیسرول و اثر متقابل درصد گلیسرول - اسید اولئیک است که نشان‌دهنده وجود رابطه خطی توان بین سه فاکتور مورد بررسی بر میزان حلایت در آب فیلم خوراکی است. عبارات مربوط به اثرات درجه دوم درصد ایزوله پروتئین به شکل مدل حالت احتمال بخشید.

نتایج و بحث تشکیل فیلم

فیلم‌ها به راحتی از قالب‌ها جداسازی شدن؛ فیلم‌ها منعطف و تاحدوی محکم بودند به طوری که به آسانی قابل جابه‌جایی بودند.

ضخامت و دانسیته

با افزایش درصد ایزوله پروتئین، ضخامت و دانسیته به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<0.01) و در غلظت ثابت پروتئین با افزایش میزان گلیسرول و اسید اولئیک ابتدا ضخامت افزایش یافته و سپس کم شد، این پدیده به دلیل باز شدن شبکه پروتئین و از دست دادن آب توسط فیلم قابل توجیه است. اما در غلظت ثابت پروتئین با افزایش درصد گلیسرول و اسید اولئیک، دانسیته به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<0.01).

کوکوسزاکا و همکاران (۲۰۰۹) طی بررسی تأثیر درصد ایزوله پروتئین سویا بر روی ضخامت فیلم به این نتیجه رسیدند که با افزایش درصد ایزوله پروتئین از ۶ درصد به ۹ درصد، ضخامت فیلم از ۰/۰۵۲۶ میلی‌متر به ۰/۸۳۶ میلی‌متر رسید که مشابه ضخامت‌های اندازه‌گیری شده در این پژوهش بود و با افزایش درصد ایزوله پروتئین سویا در غلظت ثابت گلیسرول اثر معنی‌داری (P<0.05) بر افزایش ضخامت فیلم تولیدی داشت. همچنین در غلظت ثابت پروتئین با افزایش درصد گلیسرول کاهش کمی در ضخامت فیلم‌ها مشاهده گردید، ولی تأثیر آن

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای اندازه‌گیری مواد محلول در آب فیلم خوراکی

Table 1. Analysis of variance (ANOVA) response surface model to measure the water-solubility of edible film

P - Value	مقدار df	درجه آزادی	مجموع مربعات Sum of Square	منبع Source
0<0.0001**	9		1100.18	مدل
0<0.0001**	1		814.15	غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)
0.0117*	1		42.52	غلظت گلیسرول (درصد) (B)
0.0212*	1		33.45	غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)
0.0103*	1		44.63	عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A ²)
0.0196*	1		34.59	عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B ²)
0.3513 ^{ns}	1		4.29	عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C ²)
0.0012**	1		89.18	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)
0.0991 ^{ns}	1		14.82	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)
0.0174*	1		36.34	غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)

$\alpha = 0.01$ و $\alpha = 0.05$ و معنی‌دار در سطح ns.

ns: Non-significant, *and **: Significant at $\alpha = 0.05$ & $\alpha = 0.01$, respectively.

A = Grass pea protein isolate concentration (%)

B = Glycerol concentration (%)

C = Acid oleic concentration (%)

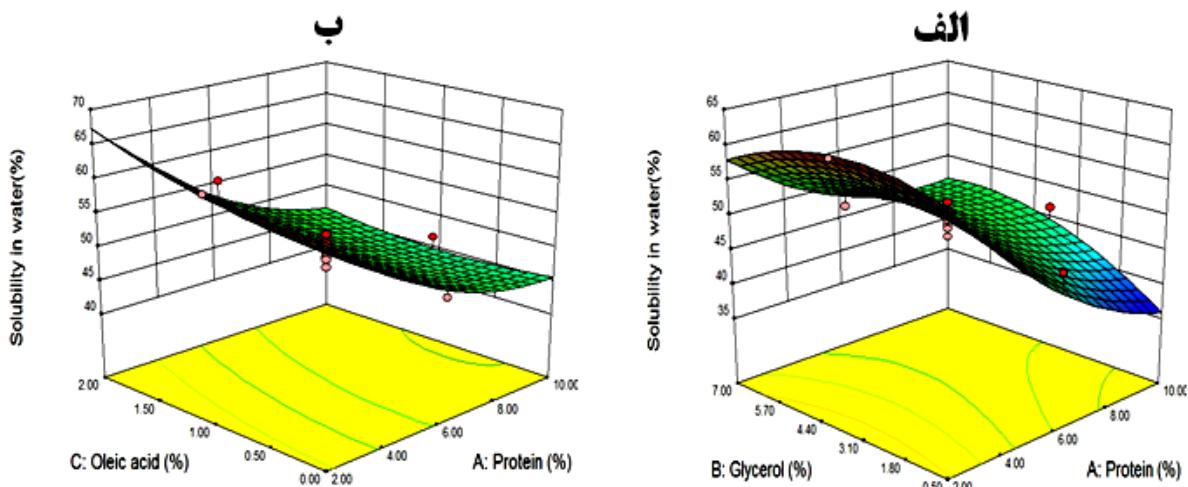
خوارکی با منشأ پروتئین آب پنیر به نتایجی مشابه دست یافتند و گزارش کردند که افزایش درصد پروتئین و موم زنبور عسل سبب کاهش مواد محلول در آب شد ولی سوربیتول به عنوان نرم‌کننده سبب افزایش مواد محلول در آب فیلم‌های خوارکی شد. این بدين معنی است که با افزایش پروتئین و موم مقدار آب بیشتری در ساختار فیلم سبب حفظ آب بیشتر در ساختار فیلم و افزایش میزان سوربیتول سبب بهجا ماندن Ozdemir آب کمتری در ساختار فیلم می‌شود (Floros, 2008).

پرز - گاگو و همکاران (۱۹۹۰) نیز مقدار مواد کل محلول فیلم‌های خوارکی تهیه شده از وی پروتئین‌ها را حدود ۲۰ درصد اعلام کرداند. این نتایج در مقایسه با نتایج ما مقادیر کمتری را نشان می‌دهد (Perez-Gago *et al.*, 1999). کونته و همکاران (۱۹۹۷) نیز در بررسی فیلم‌های تهیه شده از پروتئین سویا ضمن اینکه به نتایجی مشابه تحقیقات ما دست یافتند، درصد مواد محلول را بین ۳۰ تا ۴۰ درصد اعلام کرده‌اند (Kunte *et al.*, 1997).

بورتوون (۲۰۰۸) در طی تحقیقات خود بر روی فیلم خوارکی تهیه شده از نشاسته برنج و کیتوزان گزارش کرد که با افزایش درصد نرم‌کننده انحلال‌پذیری فیلم افزایش می‌یابد (Bourtoom, 2008).

برای ارزیابی مطلوبیت برآذش داده‌ها مقادیر R^2_{adj} و $C.V$ مورد بررسی قرار گرفت؛ این مقادیر به ترتیب برابر 0.9608 و $4/18$ بود. برای اطمینان از کفايت مدل از آزمون عدم برآذش استفاده شد؛ با توجه به جدول آنالیز واریانس مربوط به حلالیت در آب فیلم خوارکی مورد بررسی، معنی‌دار نشد که نشان‌دهنده برآذش مناسب مدل بود.

در شکل ۱(الف)، در غلظت ثابت اسید اولئیک (۱ درصد)، اثر افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول بر میزان حلالیت در آب نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد ایزوله پروتئین، حلالیت در آب را کاهش داد ولی افزایش درصد گلیسرول به میزان بسیار کمتری نسبت به درصد ایزوله پروتئین سبب افزایش حلالیت در آب شد (البته در غلظت‌های پایین پروتئین ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش در حلالیت شد). با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین و گلیسرول و نیز اثر درجه دوم درصد ایزوله پروتئین و درصد گلیسرول ($P<0.05$)، می‌توان وجود حالت انجنا را در کنتور انتظار داشت. همچنان اثر متقابل ایزوله پروتئین - گلیسرول، معنی‌دار شده است و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به صورت خطی با شبیب کم حلالیت در آب کاهش می‌یابد. احتمالاً افزایش میزان گلیسرول سبب باز تر شدن ماتریس فیلم گردیده و باعث نفوذ آب در لای شبکه افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، افزایش میزان پروتئین سبب افزایش استحکام فیلم شده و به حفظ حالت یکپارچگی آن کمک می‌کند. اوزدمیر و فلوروس (۲۰۰۷) با بررسی فیلم‌های



شکل ۱- نمایش نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر درصد ایزوله پروتئین خلو و درصد گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلو و اسید اولئیک؛ (ب) بر روی مواد محلول در آب فیلم خوارکی

Fig. 1. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on water-solubility of edible films.

خوارکی است. عبارات مربوط به اثرات درجه دوم درصد ایزوله پروتئین به شکل مدل حالت انحنا بخشیده است.

برای ارزیابی مطلوبیت برآذش دادهای مقادیر R^2_{adj} و C.V به ترتیب برابر 0.9359 ، 0.8782 و $8/90$ بود. برای اطمینان از کفايت مدل از آزمون عدم برآذش استفاده شد که با توجه به جدول آنالیز واریانس مربوط به حلایت در اسید فیلم خوارکی آزمون ضعف برآذش معنی‌دار نشد که نشان‌دهنده برآذش مناسب مدل بود.

در شکل ۲ (الف)، در غلظت ثابت اسید اولئیک ۱ درصد، اثر همزمان ایزوله پروتئین-گلیسرول بر میزان حلایت در اسید نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد ایزوله پروتئین، حلایت در اسید را کاهش داد ولی افزایش درصد گلیسرول به میزان بسیار کمتری نسبت به درصد ایزوله پروتئین سبب افزایش حلایت در اسید شد (البته در غلظت‌های پایین پروتئین ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش در حلایت گردید). با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین و گلیسرول و نیز اثر درجه دوم درصد ایزوله پروتئین و درصد گلیسرول ($P < 0.05$) می‌توان وجود حالت منحنی را در کنتور انتظار داشت. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین-گلیسرول، معنی‌دار شده است و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به صورت خطی با شیب کم، حلایت در اسید کاهش می‌یابد. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت اسید اولئیک ۱ درصد، بیشترین میزان حلایت در اسید در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد، گلیسرول $3/75$ درصد مشاهده شد. اعرابی و همکاران (۱۳۸۵)، طی پژوهش خود روی تأثیر درصد گلیسرول بر روی میزان حلایت فیلم‌های خوارکی تهیه شده از گلوتن گندم به نتایج مشابه ما دست یافتند و اظهار داشتند با افزایش درصد گلیسرول، فیلم خوارکی در اسید بیشتر حل می‌گردد (A`arabi *et al.*, 2007).

در شکل ۲ (ب)، در غلظت ثابت گلیسرول $3/75$ درصد، اثر همزمان ایزوله پروتئین - اسید اولئیک بر میزان حلایت در اسید نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد اسید اولئیک، حلایت در اسید را افزایش داد. با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین، درصد اسید اولئیک ($P < 0.05$) و معنی‌دار بودن درجه دوم غلظت پروتئین و می‌توان وجود حالت تقریباً خطی را در کنتور انتظار داشت که انحنای کم آن به دلیل معنی‌دار شدن عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین است. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین - اسید اولئیک، معنی‌دار نیست و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به صورت خطی و با شیب نسبتاً بیشتری نسبت به اثر متقابل پروتئین-گلیسرول حلایت در آب کاهش یافته است. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت گلیسرول $3/75$ درصد، بیشترین میزان حلایت در آب در اسید اولئیک ۲ درصد و کمترین میزان حلایت در آب در میزان ایزوله پروتئین ۱۰ درصد و اسید اولئیک صفر درصد مشاهده شد.

محققان در بررسی میزان مواد کل محلول فیلم‌های خوارکی تهیه شده از پروتئین تغليظ شده نخود اظهار داشتند که میزان مواد کل محلول این فیلم‌ها حدود ۴۰ درصد است (Choi & Han, 2001).

بر اساس شکل، در مقدار ثابت اسید اولئیک ۱ درصد، بیشترین میزان حلایت در آب در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد، گلیسرول $3/75$ درصد و کمترین میزان حلایت در آب در میزان ایزوله پروتئین 10 درصد و گلیسرول $0/5$ درصد مشاهده شد.

در شکل ۱(ب)، در غلظت ثابت گلیسرول ($3/75$)، اثر همزمان ایزوله پروتئین - اسید اولئیک بر میزان حلایت در آب نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد اسید اولئیک، حلایت در آب را افزایش داد. با توجه به معنی‌دار شدن اثر خطی ایزوله پروتئین، درصد اسید اولئیک ($P < 0.05$) و معنی‌دار بودن درجه دوم غلظت پروتئین، می‌توان وجود حالت تقریباً خطی را در کنتور انتظار داشت که انحنای کم آن به دلیل معنی‌دار شدن عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین است. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین - اسید اولئیک، معنی‌دار نیست و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به صورت خطی و با شیب نسبتاً بیشتری نسبت به اثر متقابل پروتئین-گلیسرول حلایت در آب کاهش یافته است. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت گلیسرول $3/75$ درصد، بیشترین میزان حلایت در آب در اسید اولئیک ۲ درصد و کمترین میزان حلایت در آب در میزان ایزوله پروتئین 10 درصد و اسید اولئیک صفر درصد مشاهده شد.

احتمالاً کاهش انحلال پذیری فیلم خوارکی با افزایش درصد پروتئین به دلیل دناتوره شدن و تغییر ماهیت ساختار پروتئین حین فرآیند تولید فیلم می‌باشد که سبب ایجاد شبکه‌ای مستحکم با پیوندهای دی سولفیدی قوی در ساختار شبکه پروتئینی شده و مانع از فروپاشی شبکه و انحلال پذیری آن می‌شود؛ این ساختمان قادر به نگهداری برخی مولکول‌های اسید چرب در بین خود می‌باشد که با قرارگرفتن در آب سبب باز شدن بیشتر ساختمان و کمک به حل شدن بیشتر آن می‌کند. همانطور که در جدول ۲، مشاهده می‌شود، عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل: درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول، درصد اسید اولئیک، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول و عبارات اثر متقابل درصد ایزوله پروتئین خلر - درصد گلیسرول است که نشان‌دهنده وجود رابطه سینزیستی بر میزان حلایت در اسید فیلم

انحلال پذیری پروتئین کاسته شد و درنتیجه حلالیت در اسید نسبت به حلایت در آب و قلیا دارای میزان کمتری بود. همچنین با توجه به شکل، در مقدار ثابت گلیسرول ۳/۷۵ درصد، بیشترین میزان حلایت در اسید در میزان ایزوله پروتئین ۲ درصد و اسید اولئیک ۲ درصد و کمترین میزان حلایت در اسید در میزان ایزوله پروتئین ۱۰ درصد و فاقد اسید اولئیک مشاهده گردید.

اسید اولئیک در ترکیب فیلم خوراکی مشابه نرم‌کننده عمل می‌کند در نتیجه با افزایش میزان این دو از میزان پیوندهای دی سولفیدی و هیدروژنی بین و داخل زنجیره‌ای پروتئین کاسته شده و در نتیجه ساختمان فیلم بازتر شده و فیلم محلول‌تر می‌گردد. اما افزایش پروتئین سبب افزایش پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های پروتئین و آب گردیده و به حفظ ساختار فیلم در اسید کمک می‌کند. با کاهش pH از

جدول ۲ - نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای اندازه‌گیری مواد محلول در اسید فیلم خوراکی

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) response surface model to measure the acid - solubility of edible film

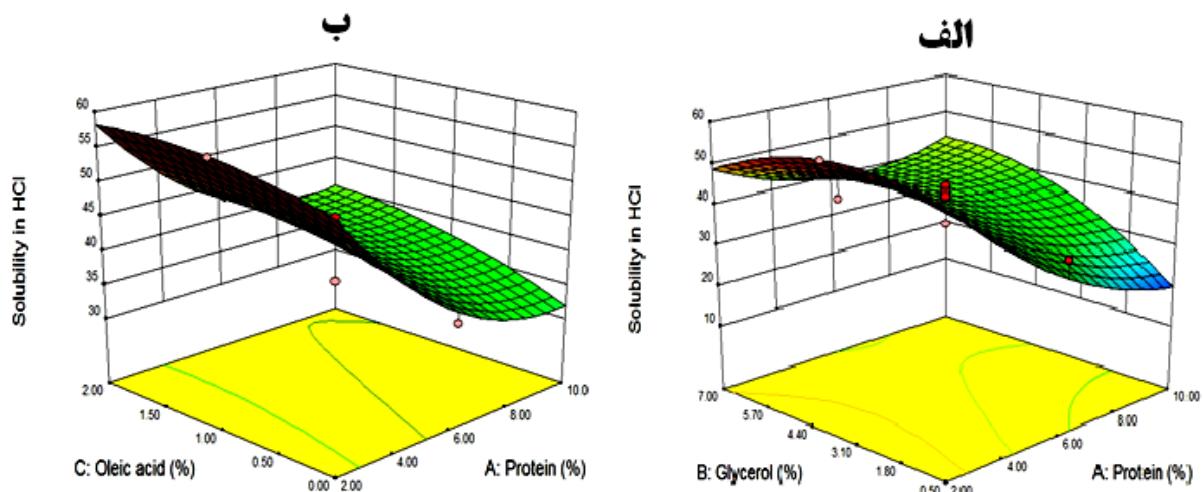
P - Value	مقدار P	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of Square	منبع Source
0<0.0001**		9	1925.25	مدل
0<0.0001**		1	989.03	غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)
0.0029**		1	202.41	غلظت گلیسرول (درصد) (B)
0.0201*		1	100.49	غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)
0.0142*		1	115.96	عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)
0.0184*		1	104.23	عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)
0.4734 ^{ns}		1	7.32	عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C^2)
0.0002**		1	449.40	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)
0.3569 ^{ns}		1	12.30	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)
0.7748 ^{ns}		1	1.14	غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)

$\alpha = 0.01$ و $\alpha = 0.05$ **، بهترتیغ غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ns

ns: Non-significant, *and **: Significant at $\alpha = 0.05$ & $\alpha = 0.01$, respectively.

A = Grass pea protein isolate concentration (%) B = Glycerol concentration (%)

C = Acid oleic concentration (%)



شکل ۲ - نمایش نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر درصد ایزوله پروتئین خلر و درصد گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولئیک: (ب) بر روی مواد محلول در اسید فیلم خوراکی

Fig. 2. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on acid-solubility of edible films

و درجه اشباعیت نفوذپذیری به بخار آب کم می‌شود (Yang & Paulson, 2000). گونتارد و همکاران (۱۹۹۳) به نتایجی مشابه دست یافتند در تحقیقات آن‌ها نیز با افزایش درصد گلیسرول نفوذپذیری فیلم‌های خوراکی تولیدی از گلوتون گندم نیز افزایش یافت (Gontard *et al.*, 1993).

تاوین (۲۰۰۸) به بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ناشاسته برنج و کیتوزان پرداخت و به نتایج مشابهی دست یافت وی اظهار داشت با افزایش غلظت نرم‌کننده نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد (Thawien, 2008). اوزدمیر و فلوروس (۲۰۰۷) با بررسی فیلم‌های پروتئین آب پنیر، به این نتیجه رسیدند که پروتئین و موم سبب کاهش نفوذپذیری به بخار آب شده که مخالف بسیاری از مطالعات و نتایج پژوهش بود. اما با افزایش غلظت نرم‌کننده افزایش نفوذپذیری در فیلم‌ها گزارش شد که مشابه نتایج بود (Ozdemir & Floros, 2007).

چوی و هان (۲۰۰۱) طی بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از پروتئین نخود به این نتیجه رسیدند که درصد گلیسرول به طور معنی‌داری بر روی نفوذپذیری به بخار آب تأثیرگذار نیست. اما در تحقیقات مشکانی و همکاران (۱۳۸۹) بر روی ایزوله پروتئین نخود، افزایش درصد گلیسرول سبب افزایش نفوذپذیری به بخار آب شد (Choi & Han 2001 ; Meshkani *et al.*, 2011).

نفوذپذیری زیاد فیلم به بخار آب، به‌واسطه وجود گروههای هیدروکسیل زیاد در ساختار این فیلم‌هاست که خواص هیدروفیلیک را در فیلم افزایش داده و سبب کاهش خصوصیات ممانعت‌کنندگی در برابر انتقال بخار آب می‌شود. پروتئین خلر آبدوست است، زیرا پروتئین‌های اصلی بقولات گلوبولین‌ها و آلبومین‌ها هستند که ماهیتی هیدروفیل دارند (McHugh, 1994).

نفوذپذیری به اکسیژن

به‌دلیل جذب اکسیژن و دفع دی اکسید کربن توسط میوه‌ها و سبزی‌ها در فرآیند تنفس مواد غذایی طی نگهداری انبارمانی از موارد مهم در بسته‌بندی میوه‌ها و غذاهای تازه است. همچنین اکسیژن نقش بسیار مهمی در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی از جمله اکسیداسیون لیپیدها و تنفس سلول‌های زنده دارد. بنابراین کنترل مهاجرت اکسیژن به درون بسته‌بندی و میزان در دسترس بودن آن برای مواد غذایی بسیار حائز اهمیت است. همانطور که در جدول ۴، مشاهده می‌شود، عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل، درصد ایزوله پروتئین خلر، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر است که

کلیه فیلم‌های تولیدی در تمامی درصدهای ایزوله پروتئین، گلیسرول و اسید اولئیک، در سود ۱ نرمال پس از گذشت ۲۴ ساعت کاملاً حل شده و حتی تمامی نمونه‌ها در سود ۰/۱ نرمال نیز پس از گذشت ۲۴ ساعت حل شدن، مطلب اخیر، به واسطه افزایش انحلال‌پذیری پروتئین با افزایش pH قابل توجیه است. با افزایش pH پروتئین کاملاً حل شده و درنتیجه شبکه از هم جدا شده و فیلم در آب محلول گردید.

نفوذپذیری به بخار آب

بر اساس جدول ۳، عبارت‌های معنی‌دار مدل ($P<0.05$) شامل: درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول، درصد اسید اولئیک، عبارت درجه دوم درصد ایزوله پروتئین خلر، درصد گلیسرول و درصد اسید اولئیک و اثرمتقابل درصد ایزوله پروتئین-اسیداولئیک و درصد گلیسرول-اسید اولئیک بر میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم خوراکی است. برای ارزیابی مطلوبیت برازش داده‌ها مقادیر R^2_{adj} و C.V مورد بررسی قرار گرفت و به ترتیب معادل ۰/۹۹۷۳، ۰/۹۹۴۹ و ۲/۸۳ بود. برای اطمینان از کفايت مدل از آزمون عدم برازش استفاده شد که با توجه به جدول آنالیز واریانس مربوط به شفافیت فیلم خوراکی آزمون ضعف برازش معنی‌دار نشد که نشان‌دهنده برازش مناسب مدل بود. در شکل ۳ (الف)، در غلظت ثابت اسید اولئیک ۱ درصد، اثر همزمان ایزوله پروتئین-گلیسرول بر میزان نفوذپذیری به بخار آب نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش درصد ایزوله پروتئین و گلیسرول، نفوذپذیری به بخار آب افزایش یافت. همچنین اثر متقابل ایزوله پروتئین - گلیسرول، معنی‌دار نشده است و با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و گلیسرول به صورت ثابت ووابسته به غلظت پروتئین، نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد. در شکل ۳ (ب)، در غلظت ثابت گلیسرول ۳/۷۵، اثر همزمان ایزوله پروتئین-اسید اولئیک بر میزان نفوذپذیری به بخار آب نشان داده شده است. بر این اساس افزایش درصد اسید اولئیک، نفوذپذیری به بخار آب را به طور معنی‌داری کاهش داد. چون اثر متقابل ایزوله پروتئین-اسید اولئیک، معنی‌دار شده است، با افزایش همزمان ایزوله پروتئین و اسید اولئیک به صورت آنتاگونیستی، نفوذپذیری به بخار آب افزایش می‌یابد که پروتئین در جهت افزایش اسید اولئیک در جهت کاهش نفوذپذیری عمل می‌کند.

یانگ و پاولسون (۲۰۰۰) طی بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ژلان گزارش کردند که با افزایش درصد گلیسرول نفوذ پذیری به بخار آب افزایش می‌یابد و با افزایش طول زنجیر

نفوذپذیری به اکسیژن فیلم خوراکی است.

نشان‌دهنده وجود رابطه خطی مقدار ایزوله پروتئین بر میزان

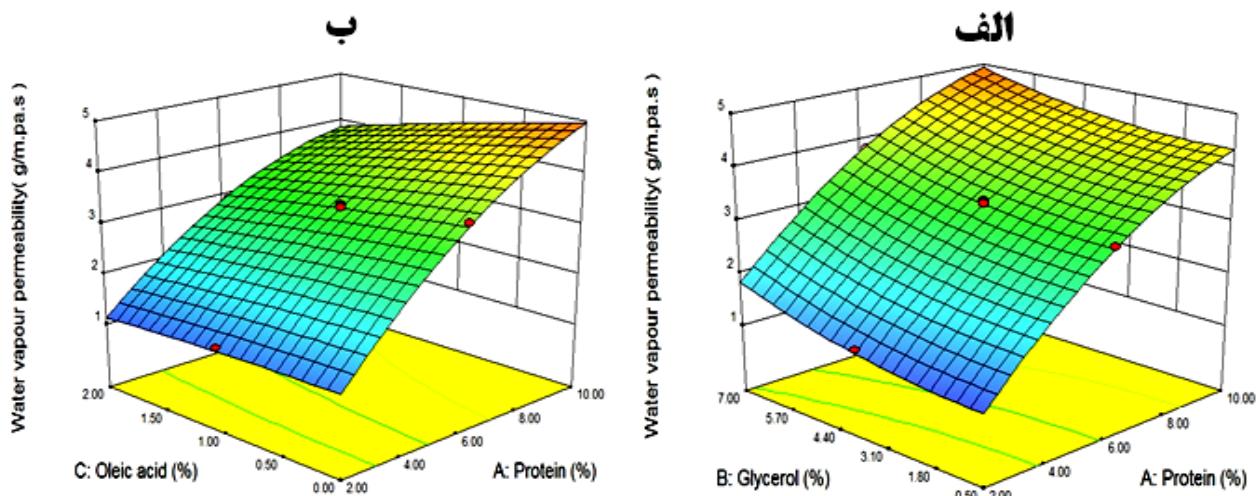
جدول ۳- آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ درجه دو برای نفوذپذیری به بخار آب

Table 3. Analysis of variance response surface model to measure the water vapor permeability of edible film

P - Value	مقدار	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع
	P - Value	df	Sum of Square	Source
0<0.0001**		9	3.27	مدل
0<0.0001**		1	25.89	غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)
0<0.0001**		1	1.27	غلظت گلیسرول (درصد) (B)
0.0005**		1	0.95	غلظت اسید اولنیک (درصد) (C)
0<0.0001**		1	0.63	عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)
0<0.0001**		1	0.096	عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)
0.5464ns		1	0.003	عبارت درجه دوم غلظت اسید اولنیک (C^2)
0.1053ns		1	0.025	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)
0<0.0001**		1	0.43	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولنیک (AC)
0.0417*		1	0.044	غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولنیک (BC)

$\alpha = 0.01$ و $\alpha = 0.05$ و به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح

ns: Non-significant, *and **: Significant at $\alpha=0.05$ & $\alpha=0.01$, respectively.



A = Grass pea protein isolate concentration (%)

B = Glycerol concentration (%)

C = Acid oleic concentration (%)

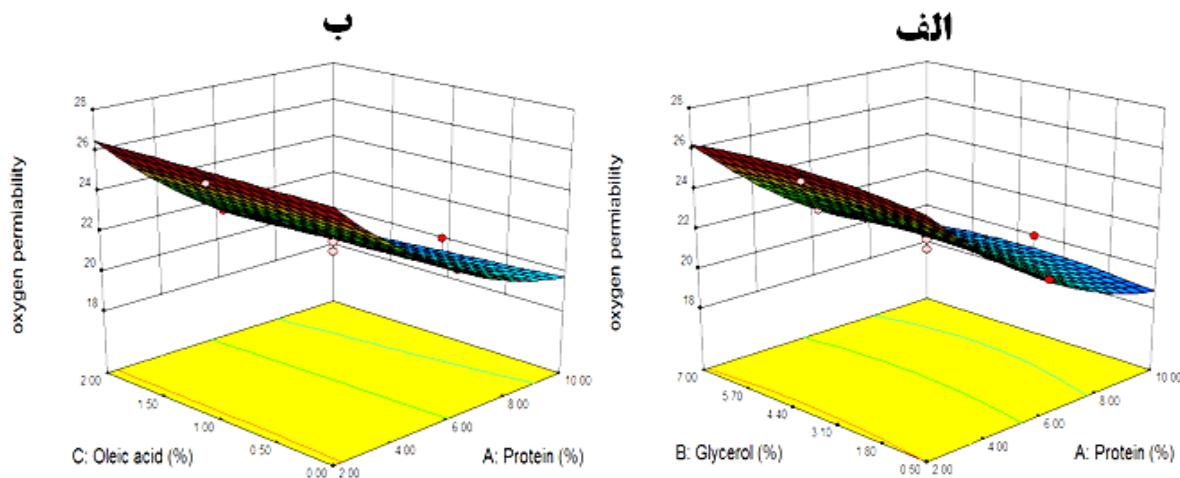
شکل ۳- نمودار سه بعدی اثر همزمان درصد ایزوله پروتئین خلر و گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولنیک

(ب) بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم خوراکی

Fig. 3. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on the water vapor permeability of edible films

نفوذپذیری به اکسیژن افزایش می‌یابد. که احتمالاً به دلیل رقابت آب و گلیسرول در حفظ جایگاه‌های فعال و آزاد شبکه فیلم و درنتیجه ایجاد فضاهای شبکه‌ای و خوش‌های آب کرده و فضاهای خالی را افزایش می‌دهد (Gounga *et al.*, 2007). برای ارزیابی مطلوبیت برآش داده‌ها مقادیر R^2_{adj} و C.V به ترتیب برابر ۰/۹۶۹۶، ۰/۹۸۴۰ و ۲/۱۱ بود. آزمون ضعف برآش مدل مربوط به نفوذپذیری به بخار آب بود.

عبارت‌های مربوط به اثرات درجه دوم درصد ایزوله پروتئین به شکل مدل حالت احنا بخشیده است. گونگا و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی فیلم‌های خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتئین آب پنیر اظهار داشتند که افزایش درصد پروتئین اثر معنی‌داری بر کاهش نفوذپذیری به اکسیژن دارد، نتایج نامبردگان مشابه نتایج پژوهش بود. همچنین در نتایج تحقیقات بیان کردند با افزایش درصد گلیسرول نیز به آرامی



شکل ۴- نمودار سه بعدی اثر همزمان درصد ایزوله پروتئین خلر و گلیسرول (الف) و درصد ایزوله پروتئین خلر و اسید اولئیک (ب) بر نفوذپذیری به اکسیژن فیلم خوراکی

Fig. 3. Three-dimensional plot of the percentage of grasspea protein isolate and glycerol (A) and the percentage of grasspea protein isolates and oleic acid (B) on the oxygen permeability of edible films

جدول ۴- آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ درجه دوم برای نفوذپذیری به اکسیژن

Table4. Analysis of variance response surface model to measure the oxygen permeability of edible film

P - Value	مقدار	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع
	P - Value	df	Sum of Square	Source
0<0.0001**		9	133.37	مدل
0<0.0001**		1	126.74	غلظت ایزوله پروتئین خلر (درصد) (A)
0.4343 ^{ns}		1	0.14	غلظت گلیسرول (درصد) (B)
0.2754 ^{ns}		1	0.29	غلظت اسید اولئیک (درصد) (C)
0.9410 ^{ns}		1	4.11	عبارت درجه دوم غلظت ایزوله پروتئین خلر (A^2)
0.2261 ^{ns}		1	0.39	عبارت درجه دوم غلظت گلیسرول (B^2)
0.1421 ^{ns}		1	0.002	عبارت درجه دوم غلظت اسید اولئیک (C^2)
0.9410 ^{ns}		1	0.0012	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت گلیسرول (AB)
0.2261 ^{ns}		1	0.36	غلظت ایزوله پروتئین خلر × غلظت اسید اولئیک (AC)
0.1421 ^{ns}		1	0.55	غلظت گلیسرول × غلظت اسید اولئیک (BC)

$\alpha = 0.01$ و $\alpha = 0.05$ و ***. ns به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح

ns: Non-significant, *and **: Significant at $\alpha = 0.05$ & $\alpha = 0.01$, respectively.

A = Grass pea protein isolate concentration (%) B = Glycerol concentration (%)

C = Acid oleic concentration (%)

اثر گلیسرول و اسید اولئیک بر روی ضخامت، دانسیته و حلالیت در آب و اسید تقریباً مشابه و افزایشی بود. با افزایش گلیسرول و اسید اولئیک، نفوذپذیری به بخار آب بهترتیب افزایش و کاهش یافت. با بهینه‌یابی طرح معلوم شد با استفاده از ۲/۶۰ درصد ایزوله پروتئین، ۶/۹۳ درصد گلیسرول و صفر درصد اسید اولئیک، برای تهیه فیلم خوراکی، این فیلم دارای ایده‌آل‌ترین

نتیجه‌گیری
ایزوله پروتئین خلر به راحتی تشکیل فیلم داده و می‌توان از آن در تهیه بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر با هدف افزایش زمان نگهداری ماده غذایی، استفاده نمود. افزایش درصد ایزوله پروتئین سبب افزایش ضخامت، دانسیته، نفوذپذیری به بخار آب و کاهش حلالیت در آب و اسید شد.

داشتند و این بیانگر مناسب بودن این روش برای بررسی و مطالعه اثر عوامل مختلف تولید فیلم بر ویژگی‌های آن می‌باشد.

حالات مجموع خصوصیات ضخامت، دانسیته، درصد مواد محلول در آب و اسید و نفوذپذیری به بخار آب است.

مدل‌های پیشنهادی به روش سطح پاسخ برای بررسی ویژگی فیلم‌های تهییه شده، ضریب همبستگی بالایی (۸۶/۹۵)

منابع

1. A'arabi, A., Azizi, M.H., and Bahrami, B. 2007. Producing of edible film from wheat gluten. Sixteen National Congresses of Food Science. Iran, Gorgan. (In Persian with English Summary).
2. Arthan, A., Prodpran, T., and Benjakul, S. 2009. Round scad protein-based film: storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder. LWT- Food Science and Technology 42: 1238-1244.
3. Choi, W.S., and Han, J.H. 2001. Physical and Mechanical Properties of Pea-Protein-based Edible Films. Journal of Food Science 66 (2): 319-322.
4. Druchta, J.M., and Johnston, C.D. 1997. An update on edible films. Food Technology 51 (2):1-3.
5. Jayan, P.R., and Kumar V.J.F. 2004. Planter design in relation to the physical properties of seeds. Journal of Tropical Agriculture 42 (1-2): 69-71.
6. Gontard, N., Guilbert, S., and Cuq, J.L. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat film. Journal of Food Science 58: 206-211.
7. Gounga, M.E. 2007. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. Journal of Food Engineering 83: 521-530.
8. Hosseini, S.M., Razavi, S.H., Musavi, S.M. 2006. Anti-microbial, physical and mechanical properties, of edible production chitosan films containing essence of thyme and clove. Journal of Food Science and Technology 5 (2):41-51. (In Persian).
9. Kadoya, T. 1990. Food Packaging. Academic, New York, NY.
10. Kester, J. J. and Fennema, O. R. 1986. Edible films and coatings: A review. Food Technology 40(12): 47-59.
11. Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., and Voilley, A. 2010. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. Innovative Food Science and Emerging Technologies 11: 503-510.
12. Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppett, S.L., Hanna, M.A., and Weller, C.L. 1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. Cereal Chemistry 74 (2): 115-118.
13. McHugh, T.H., and Krochta, J.M. 1994. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. Journal of Agriculture Food Chemistry 59 (2): 416-419.
14. Meshkani, S.M., Mortazavi, S.A., Milani, E., Mokhtarian, M., and Sadeghian, L.S. 2011. Evaluation of mechanical and optical properties of edible films based on pea proteins isolated (*Cicer arietinum* L.) Containing Thymus essence using response surface methodology. Journal of Food Science and Technology 2 (3): 25-37. (In Persian with English Summary).
15. Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., and Voilley, A. 2002. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. Food Science 42 (1): 67- 89.
16. Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C., and Jackson, M.G. 2005. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. Journal of Food Engineering 70: 205-210.
17. Ozdemir, M., Floros John, D., 2008. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. Journal of Food Engineering 86: 215-224.
18. Perez-Gago, M.B., Nadaud, P., and Krochta, J.M. 1999. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. Journal of Food Science 64 (6): 1034-1037.
19. Rotter, R.G., Marquardt, R.R., and Campbell, C.G. 1991. The nutritional value of low lathyrogenic *Lathyrus (Lathyrus sativus)* for growing chicks. British Poultry Science.
20. Thawien, B. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan., Songklanakarin. Journal of Science and Technology 30 (1): 149-165.
21. Xu, Sh. 2006. Extraction of Protein from *lathyrus sativus* and study on its functional characters. Modern Food Science and Technology 6 (1): 3-10.
22. Yang, L., and Paulson, A.T. 2000. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. Food Research International 33: 563-570.

Physicochemical and barrier properties of edible films based on protein isolated from grass pea (*Lathyrus sativus*) using response surface methodology

Hoseinzadeh¹, A., Milani^{2*}, E., Elhami Rad³, A.H. & Haddad Khodaparast⁴, M.H.

1- PhD. Student of Food Science and Technology Dep., Islamic Azad University of Sabzevar, Iran

2- Assistant Professor Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Mashhad- Iran

3- Assistant Professor of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Sabzevar, Iran

4- Professor of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Received: 12 March 2013

Accepted: 16 July 2014

Abstract

Legumes are rich sources of protein and consider a good alternative to make a protein films. In this study, central composite design to investigate the simultaneously effect of the grasspea protein isolates (2 - 10 percent), glycerol (0.5 - 7%) and oleic acid (0 - 2%) on properties of edible films made from grasspea protein isolates, such as thickness, density, percentage of solubility in water, acid and alkaline, and permeability to water vapor and oxygen were used. The result shows that increasing protein and glycerol concentrations were significantly increased water vapor permeability and increasing in concentrations of oleic acid decreased it significantly. Solubility in water and acid by increasing the protein content decreased and with increasing glycerol and oleic acid increased ($P<0.05$). Optimization results of edible films made from green pea protein isolates showed that for an optimal film that have minimum thickness with 0.087 mm, minimum equal density 697.486 (kg.m^{-3}), Least equal to the water vapor permeability 1.42×10^{-9} ($\text{g. m}^{-1}.\text{pa}^{-1}.\text{s}^{-1}$), least permeability to oxygen (peroxide value), equivalent to 24.72, maximum solubility in water and acid, respectively, 53.52% and 46.64 percent, Parameters the green pea protein isolate concentration 2.46 percent, glycerol concentration 0.5 percent and oleic acid concentration had to 0.087 percent.

Key words: Edible film, Protein isolate, Grass pea, Physicochemical and barrier properties, Response surface methodology

* Corresponding Author: e_milani81@yahoo.com, 05138810109

نشریه پژوهش های حبوبات ایران

دوفلسفانه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم کیمی و دانشگاه فردوسی مشهد

مشخصات داوران جلد ۵، شماره ۲، نیمة دوم ۱۳۹۳
(به ترتیب حروف الفبا)

دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان	ارزانی	احمد	دکتر
دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز	استوان	هادی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز	امام	یحیی	دکتر
جهاد دانشگاهی مشهد	بقائی	ساره	دکتر
پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد	پرسا	حسن	مهندس
دانش کده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	پارسا	مهندی	دکتر
دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار	جامی معینی	متین	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	جهان	محسن	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	حقینا	غلامحسین	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل	حیدری	مصطفی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	خراسانی	رضا	دکتر
دانشکده کشاورزی شیروان	دادخواه	علیرضا	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی	ذبیحی	حمدیرضا	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند	زمانی	غلامرضا	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه گرگان	زینعلی	ابراهیم	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	شهریاری	فرج الله	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	شهیدی	فخری	دکتر
ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای خمین	غدیری	عادل	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	کافی	محمد	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	لکزیان	امیر	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	مدرس اول	مهندی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه گرگان	قصودلو	یحیی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	ملکزاده	سعید	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	نباتی	جعفر	دکتر
پارک علم و فناوری مشهد	همتی	عباس	مهندس
دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج	یدوی	علیرضا	دکتر



نشریه پژوهش های حبوبات ایران

دوفلسفامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

فرم اشتراک

خواهشمند است فرم زیر را پس از تکمیل، به نشانی زیر ارسال فرمایید:

مشهد، میدان آزادی، پر迪س دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی
دفتر نشریه پژوهش های حبوبات ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۶۵۳، کد 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 گذشت شهرستان):

تلفن همراه:

نامبر:

نحوه اشتراک:

مايل به اشتراک نشریه از تاریخ تا می باشم.

بهای هر شماره از نشریه، ۵۰۰۰ ریال می باشد. خواهشمند است مبلغ مربوط به تعداد شماره های مورد نیاز را به حساب شماره ۹۹۶۵۴ بدنام عواید اختصاصی پژوهشکده علوم گیاهی نزد بانک تجارت شعبه دانشگاه فردوسی واریز نموده و فیش آن را همراه با فرم، به دفتر نشریه ارسال فرمایید. هزینه های پستی به عنده متقاضی می باشد.

امضاء:

تاریخ:

**Iranian Journal of
Pulses Research**

**List of Articles
Vol. 5, No. 2, 2014**

Title	Author(s)	Page
• Effect of foliar application of nano-iron chelate and inoculation with mesorhizobium bacteria on root nodulation, growth and yield of chickpea under rainfed conditions	Hamzei, J., Najjari, S., Sadeghi, F. & Seyedi, M.	9
• Effect of seed priming by salicylic acid on some photosynthetic traits of cowpea under water deficit in flowering stage	Pakmehr, A., Shekari, F. & Rastgoo, M.	19
• The effect of foliar application of salicylic acid and selenium on agronomic, physiological and quality characteristics of chickpea in rainfed condition	Cheraghi, A.M., Sajedi, N.A. & Gomarian, M.	31
• Evaluation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on some grows parameters and photosynthetically pigments of two green bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) plant cultivars under salt stress conditions	Firoozi, H., Pirdashti, H. & Hosseini, S.J.	43
• Effects of silicon on the physiological, quality and quantity characteristics of common bean (<i>Phaseolus vulgaris</i>) under salinity stress	Parande, S., Zamani, Gh. R., Sayyari, M.H. & Ghaderi, M.Gh.	57
• Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L.) under drought stress	Hossinzadeh, S.R., Cheniany, M. & Salimi, A.	71
• Physiological responses of Lentil (<i>Lentil culinaris</i> Medik) to salinity stress and foliar application salicylic acid	Kayednezami, R. & Balouchi, H.R.	83
• Multivariate statistical analysis in chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L.) under limited irrigation	Pirzadeh Moghaddam, M., Bagheri, A. & Malekzadeh-Shafaroudi, S. & Ganjeali, A.	99
• Identification of plant parasitic nematode collected from pulse fields in Northern Khorasan province	Ahmadi, S., Mahdikhani Moghaddam, E. & Baghaee Ravari, S.	111
• Stability of bean (<i>Phaseoulus vulgaris</i> L.) genotypes in common bacterial blight condition using regression analysis, the additive main effects and multiplicative interactions (AMMI) and Muir methods	Dorri , H.R., Lak, M.R. & Assadi, B.	119
• Repellent effects of the essential oils of <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. and <i>Zataria multiflora</i> Boiss. on <i>Callosobruchus maculatus</i> (F.) (Coleoptera: Bruchidae) with reference to their chemical compositions	Golestani Kalat, Z., Moravvej, Gh. & Azizi Arani, M.	131
• Physicochemical and barrier properties of edible films based on protein isolated from grass pea (<i>Lathyrus sativus</i>) using response surface methodology	Hoseinzadeh, A., Milani, E., Elhami Rad, A.H. & Haddad Khodaparast, M.H.	139

Iranian Journal of Pulses Research

A Biannually Scientific Journal

Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad
Vol. 5, No. 2, 2014

Published by: Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

Editor in Charge: Dr. Mohammad Kafi

Editor in Chief: Dr. Abdolreza Bagheri

Executive Director: Hassan Porsa (MSc.)

Editorial Board:

Alireza Afsharifar

Associate Professor, Shiraz University

Ahmad Arzani

Professor, College of Agriculture, Isfahan University of Technology (IUT)

Nadeali Babaeian Jelodar

Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Abdolreza Bagheri

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

Mohammad Galavi

Associate Professor, Zabol University

Serrollah Galeshi

Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Ali Ganjeali

Associate Professor, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

Gholam Hossein Haghnia

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

Mohammad Kafi

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

Nasser Majnoun Hosseini

Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj

Hossain Massumi

Associate Professor, University of Shahid Bahonar Kerman

Ahmad Moieni

Associate Professor, Tarbiat Modares University

Ahmad Nezami

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

Hadi Ostovan

Professor, College of Agricultural Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University

Sayyed Hossain Sabaghpoor

Associate Professor, Agricultural and Natural Resources Research Center, Hamadan

Editor: Zahra Taheri

Assistant: Talachian, Mirshah-Velay, Asadi

Circulation: 80

This journal has the "Scholarly Grade" issued by the Ministry of Sciences, Research & Technology (No. 3/11/3785 dated 07/06/2010) and is published based on a Memorandum of Cooperation between Mashhad Ferdowsi University and the following universities: Isfahan University of Technology; Tarbiat Modares University; University of Shahid Bahonar Kerman; Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources; Shiraz Branch, Islamic Azad University; Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

This journal is indexed in: Islamic World Science Citation Center (<http://www.isc.gov.ir>); Iranian Journals Database (<http://www.magiran.com>); Scientific Information Database (www.SID.ir)

Address:

Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Azadi Square, Mashhad- Iran
P.O. Box: 91775-1653; ZIP Code: 9177948974; Tel.: +98-51-38804801 & 38804812; Fax: +98-51-38807024;
E-mail: ijpr@um.ac.ir; Web Site: <http://rcps.um.ac.ir>; <http://ijpr.um.ac.ir/index.php/ijpr>

Iranian Journal of Pulses Research

A Biannually Scientific Journal

ISSN 2008-725X



Research Center for Plant Sciences
Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 5 (2) December 2014



دانشگاه صنعتی اصفهان



دانشگاه تربیت مدرس



دانشگاه شهید بهشتی



دانشگاه علم و کنفرانسی
و عینی کارکنان



دانشگاه هنر و فنون



دانشگاه علم و کنفرانسی
و عینی کارکنان

- Effect of foliar application of nano-iron chelate and inoculation with mesorhizobium bacteria on root nodulation, growth and yield of chickpea under rainfed conditions
Hamzei, J., Najjari, S., Sadeghi, F. & Seyed, M.
- Effect of seed priming by salicylic acid on some photosynthetic traits of cowpea under water deficit in flowering stage
Pakmehr, A., Shekari, F. & Rastgoo, M.
- The effect of foliar application of salicylic acid and selenium on agronomic, physiological and quality characteristics of chickpea in rainfed condition
Cheraghi, A.M., Sajedi, N.A. & Gomarian, M.
- Evaluation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on some growth parameters and photosynthetically pigments of two green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plant cultivars under salt stress conditions
Firooz, H., Pirdashti, H. & Hosseini, S.J.
- Effects of silicon on the physiological, quality and quantity characteristics of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under salinity stress
Parande, S., Zamani, Gh. R., Sayyari, M.H. & Ghaderi, M.Gh.
- Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress
Hossinzadeh, S.R., Cheniany, M. & Salimi, A.
- Physiological responses of Lentil (*Lentil culinaris* Medik) to salinity stress and foliar application salicylic acid
Kayednezami, R. & Balouchi, H.R.
- Multivariate statistical analysis in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under limited irrigation
Pirzadeh Moghaddam, M., Bagheri, A. & Malekzadeh-Shafaroudi, S. & Ganjeali, A.
- Identification of plant parasitic nematode collected from pulse fields in Northern Khorasan province
Ahmadi, S., Mahdikhani Moghaddam, E. & Baghaee Davari, S.
- Stability of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in common bacterial blight condition using regression analysis, the additive main effects and multiplicative interactions (AMMI) and (Muir) methods
Dorri , H.R., Lak, M.R. & Assadi, B.
- Repellent effects of the essential oils of *Lavandula angustifolia* Mill. and *Zataria multiflora* Boiss. on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) with reference to their chemical compositions
Golestan Kalat, Z., Moravvej, Gh. & Azizi Arani, M.
- Physicochemical and barrier properties of edible films based on protein isolated from grass pea (*Lathyrus sativus*) using response surface methodology
Hoseinzadeh, A., Milani, E., Elhami Rad, A.H. & Haddad Khodaparast, M.H.