University of Birjand

Journal homepage:
https://escs.birjand.ac.ir

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

Vol. 17, No. 2, pp. 209-227 (Summer 2024)

https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5413.2146

Original article

Physiological response of castor (*Ricinus communis* L.) to the application of biofertilizers and superabsorbents under water deficit stress conditions

H. Tayfa Afshari[1], B. Mirshekari[2], A. Hasanzadeh Ghorttapeh[3*], F. Farahvash[4], M. Yarnia[2]

1. *Ph.D. Candidate, Department of Agronomy and Crop Breeding, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran*
2. *Professor, Department of Agronomy and Crop Breeding, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran*
3. *Assistant Professor, Department of Seed and Plant Improvement Research, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran*
4. *Associate Professor, Department of Agronomy and Crop Breeding, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Tabriz Branch, Tabriz, Iran*

Received 24 June 2022; Accepted 15 October February 2022

Extended abstract

Introduction

The castor bean (*Ricinus communis* L.), is an oilseed of relevant economic and social importance. From its seeds is extracted an oil of excellent properties, having wide use as industrial input and several applications. It is cultivated since the times of the ancient civilizations, the castor bean is a rustic plant, resistant to drought, belonging to the family of Euphorbiaceae, Drought stress, in addition to the negative effect on yield, causes or exacerbates other stresses, especially the stress of nutrient deficiencies for the plant. The purpose of this investigation was to study the effect of irrigation levels and Superabsorbents and biofertilizers on the agronomic properties of castor oil.

Materials and methods

This experiment was conducted in West Azarbaijan Agricultural Research and Education Center, Orumieh- Iran in 2018-2021 crop season. A field experiment was carried out by a split-plot design based on a completely randomized block design with three replications. The first factor included Four levels (70, 100, 130, and 160 mm of evaporation pan), in the main plot and Sub-factor includes application of biofertilizer combination in four levels (Azospirillium, Citrobacter, combination of application of Azospirillium in Citrobacter and control without fertilizer) and superabsorbent in two levels (superabsorbent consumption and non-superabsorbent consumption) as factorial were placed in sub-plots. In this study, Chlorophyll a, Chlorophyll b, Cartonoid, Soluble sugar, prolin content, Catalase, Malondialdehyde, and protein content were measured. Also Traits were analyzed by using SAS 9.2 software and means comparison was tested by least significant difference (LSD).

Results and discussion

Based on the results of the combined analysis of the variance of the data, there was a significant difference in was observed between the two years in terms of malondialdehyde content. There was a significant difference between the irrigation levels in terms of the effect on all traits of the probability

* Corresponding author: Abdollah Hasanzadeh Ghorttapeh; E-Mail: a.g.hassanzadeh@gmail.com

© 2024, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

level of 1%. The interaction effect of year and irrigation was significant only on leaf proline content at the level of 1% probability. There was a significant difference between the biofertilizer treatments and the interaction effect of biofertilizer on irrigation and superabsorbent levels in terms of the effect on all traits at the level of one percent probability. The interaction effect of irrigation with superabsorbent on chlorophyll a and b content and soluble sugar content at 1% probability level and on proline content and protein percentage at 5% probability level was significant. Between treatments of biofertilizer with superadd interaction in terms of the effect on chlorophyll b content, soluble sugar, proline content, malondialdehyde content, and protein percentage at the level of 1% percent and in terms of the effect on chlorophyll content, carotenoids and catalase activity in 5% probability level There was a significant difference. The results showed the highest chlorophyll a (23.00 mg g^{-1}) and b content (14.93 mg g^{-1}) as well as carotenoids (30.39 mg g^{-1}) and the lowest amount of soluble sugar (113.33 micromol g^{-1} fresh weight), catalase (32.97ΔA240 mg^{-1} protein), malondialdehyde (132.44 nmol g^{-1}FW) and protein percentage (4.69%) were assigned to with Citrobacter treatment and irrigation after 70 mm of evaporation. Also, the highest soluble sugar content (131.42 micromol g^{-1} FW), proline (65.91 micromol g^{-1} FW), protein (11.48 %) was assigned to the treatment with Azosprilium + Citrobacter and irrigation after 160 mm of evaporation. In this study, the use of superabsorbent in the irrigation treatment of 70 mm evaporation had the highest chlorophyll a (21.29 mg g^{-1}) and b content (12.78 mg g^{-1}) and the lowest amount of soluble sugar (112.50 micromol g^{-1} FW), proline (26.50 micromol g^{-1} FW), catalase (35.99 ΔA mg^{-1} protein) and protein percentage (5.00%), While the highest soluble sugars content (129.12 micromols g^{-1} FW), proline (58.70 micromols g^{-1} FW), malondialdehyde (159.71 nmol g^{-1} FW), and protein (10.37 %), was observed in the treatment of superabsorbent application along with irrigation after 160 mm. In this study, the simultaneous application of superabsorbent and inoculation with azospirlium showed the highest chlorophyll a (22.25 mg g^{-1}), b content (13.79 mg g^{-1}), carotenoid (29.02 mg g^{-1}), protein (7.99%) and the lowest content of catalase enzyme (39.58 ΔA240 mg^{-1} protein), The highest soluble sugar content (122.88 micromol g^{-1} FW) and the lowest amount of malondialdehyde (141.82 nmol g^{-1}FW) were detected in the treatment of superabsorbent application with Citrobacter.

Conclusion

In this study, water deficit had an adverse effect on the physiological properties of castor oil. However, the use of biofertilizers and superplasticizers by improving biochemical and antioxidant properties was able to moderate the effect of drought stress on physiological properties and stabilize photosynthetic pigments, and the stability of photosynthetic pigments can improve photosynthetic properties and plant growth under water deficit conditions.

***Keywords*:** Azotobacter, Irrigation, Proline, Seed inoculation

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد هفدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳

https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5413.2146

مقاله پژوهشی

واکنش فیزیولوژیکی گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.) به کاربرد کودهای زیستی و سوپرجاذب تحت شرایط تنش کم‌آبی

هادی طایفه‌افشاری[۱]، بهرام میرشکاری[۲]، عبدالله حسن‌زاده قورت‌تپه[۳]*، فرهاد فرحوش[۴]، مهرداد یارنیا[۲]

۱. دانشجوی دوره دکتری، رشته زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز
۲. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز
۳. استادیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران
۴. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
آبیاری
ازوتوباکتر
پرولین
تلقیح بذر

تاریخ دریافت:
۱۴۰۱/۰۴/۰۳

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۱/۰۷/۲۳

تاریخ انتشار:
تابستان ۱۴۰۳

۱۷(۲): ۲۰۹-۲۲۷

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیکی و سوپر جاذب بر خصوصیات زراعی گیاه کرچک در تیمارهای مختلف کم‌آبی آزمایش به‌صورت اسپلیت‌پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل در مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی اجرا شد. عامل اصلی سطوح آبیاری (۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر) و عامل فرعی شامل کاربرد ترکیب کودهای زیستی (آزوسپریلیوم، سیتروباکتر، آزوسپریلیوم + سیتروباکتر و شاهد) و سوپر جاذب (مصرف و عدم مصرف سوپر جاذب) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی با سه تکرار به اجرا درآمد. نتایج نشان داد بالاترین محتوی کلروفیل a و b و همچنین کارتنوئید و کمترین مقدار قند محلول، کاتالاز، مالون دی‌آلدئید و درصد پروتئین به تیمار تلقیح با سیتروباکتر و آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر اختصاص داشت، همچنین بالاترین محتوی قند محلول، پرولین و درصد پروتئین به تیمار تلقیح با آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر و آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر اختصاص یافت. در این مطالعه کاربرد سوپرجاذب در دور آبیاری ۷۰ میلی‌متر تبخیر بالاترین محتوی کلروفیل a و b و کمترین مقادیر قند محلول، پرولین، کاتالاز و درصد پروتئین را به خود اختصاص داد، درحالی‌که بالاترین محتوی قندهای محلول، پرولین، مالون دی‌آلدئید و درصد پروتئین، در تیمار کاربرد سوپرجاذب همراه با آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر مشاهده شد. در این بررسی کاربرد هم‌زمان سوپر جاذب و تلقیح با آزوسپریلیوم بالاترین محتوی کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، درصد پروتئین و کمترین محتوی آنزیم کاتالاز را به خود اختصاص داد، بیشترین محتوی قند محلول و کمترین مقدار مالون دی‌آلدئید در تیمار کاربرد سوپرجاذب همراه به سیتروباکتر دیده شد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر تیمار با کود زیستی و سوپر جاذب هم به‌صورت جداگانه و هم ترکیبی می‌تواند راه‌کاری مناسب جهت بهبود خصوصیات فیزیولوژیک کرچک در منطقه موردبررسی باشد که در طول دوره رشد درجات مختلفی از تنش کم‌آبی را تجربه می‌کند.

مقدمه

کرچک (*Ricinus communis* L.) از مهم‌ترین گیاهان دارویی تیره فرفیون است، این گیاه در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی کاربرد فراوانی در کشورهای توسعه‌یافته دارد (Liv et al., 2012)، این گیاه در نواحی سردسیر، به‌صورت علفی رشد کرده و یک‌ساله است و ارتفاع آن ممکن است به ۲ تا ۳ متر برسد. بذر گیاه کرچک حاوی روغن است که خاصیت دارویی این گیاه به‌واسطه همین روغن و ترکیبات اسید چرب آن است، محتوی روغن دانه کرچک بر اساس نوع رقم بین ۴۰ تا ۶۰ درصد گزارش شده است (Iqbal et al., 2012). در سال ۲۰۲۰ سطح زیر کشت کرچک و مقدار تولید

* نگارنده پاسخگو: عبدا... حسن زاده قورت تپه. پست الکترونیک: a.g.hassanzadeh@gmail.com

بذر آن در جهان را تقریباً ۱/۲۲ میلیون هکتار و ۲/۰۲ میلیون تن برآورد کردند، در همین سال در ایران ۱۶ هکتار به کشت کرچک اختصاص داده شده بود. مقدار تولید بذر این محصول نیز برابر ۲۶ تن بود (FAO, 2022). در بین تنش‌های محیطی، خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل نامطلوب مؤثر بر رشد و نمو گیاهان زراعی محسوب می‌شود و به‌واسطه تأثیر هم‌زمان بر خصوصیات مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی بافت‌ها و سلول‌های گیاهی، درنهایت منجر به زوال گیاه و کاهش عملکرد می‌شود (Comas et al., 2013). تنش خشکی مشابه سایر تنش‌ها منجر به القای تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و دیگر عوامل غیر رادیکالی مانند پراکسید هیدروژن و اکسیژن منفرد در بافت‌ها و سلول‌های گیاهی می‌شود (Singh-Gill and Tuteja, 2010). اگرچه گونه‌های فعال اکسیژن در غلظت‌های پایین می‌توانند به‌عنوان عوامل تنظیم‌کننده برخی واکنش‌های گیاهی و یا به‌عنوان پیام‌رسان ثانویه عمل کنند، بااین‌حال معمولاً به‌عنوان عوامل مخرب در گیاهان، شناسایی‌شده‌اند که موجب آسیب اکسیداتیو به مولکول‌های مختلف مثل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک درون‌سلولی می‌شوند (Kruk et al., 2005). در موقع رویارویی با تنش، گیاهان از مکانیسم‌های متفاوتی جهت پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال و حفاظت خود در برابر اثرات منفی این گونه‌ها استفاده می‌کنند، محتوای گونه‌های اکسیژن فعال در سیستم‌های بیولوژیک، توسط دو نوع دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل روش‌های آنزیمی و غیر آنزیمی کنترل می‌شود. سیستم آنزیمی مانند آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ASA)، گلوتاتیون (GSH) توکورفول و غیره می‌باشند (Verma et al., 2014). گزارش شده است که تنش کم‌آبی اثر منفی بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاه کرچک داشته است (Sadeghi-Bakhtavari and Hazrati et al., 2018; Rahbari et al., 2021)

استفاده بهینه از آب در بخش کشاورزی می‌تواند نقش چشم‌گیری در توسعه و بقای جوامع بشری داشته باشد، به این منظور موادی مانند پلیمرهای هیدروژل سوپرجاذب که نقش مهمی در بهبود نگهداری آب در خاک دارند جهت افزایش بهره‌وری آب در خاک موردتوجه قرارگرفته‌اند (Islam et al., 2011)، از مهم‌ترین مزایای استفاده از سوپرجاذب‌ها می‌توان به افزایش طولانی‌مدت ظرفیت نگه‌داری آب و مواد غذایی، کاهش مقدار آبشویی مواد غذایی، افزایش فعالیت و بهبود فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک، رشد مناسب ریشه‌ها و ... اشاره کرد (Fazeli Rostampour et al., 2013). در مطالعاتی بر روی یونجه (Khalili and Khalili and Hamzeh, 2021a) و چغندرقند (Khalili and Hamzeh, 2021b) کاربرد سوپر جاذب، تحت شرایط تنش کم‌آبی موجب بهبود خصوصیات کمی و کیفی در این دو محصول شد. در تحقیقی بر روی کلزای بهاره گزارش شد کاربرد نانوسوپرجاذب با کودهای زیستی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از طریق حفظ نیتروژن بیشتر در خاک و افزایش اثر کود شد. در این مطالعه کاربرد باکتری‌های محرک رشد و نانو سوپرجاذب قندهای محلول، پروتئین، کلروفیل، محتوای آب برگ و شاخص پایداری غشاء را افزایش داد (Valipour et al., 2021).

یکی از روش‌هایی که اخیراً جهت مقابله با خشکی و تعدیل تنش کم‌آبی مورداستفاده قرار گرفته است استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی است، از مهم‌ترین این میکروارگانیسم‌ها می‌توان به باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا اشاره کرد (Fasusi et al., 2021). این باکتری‌ها می‌توانند در محیط ریشه مواد زیستی فعال تولید و ترشح نمایند که این مواد شرایط را برای توسعه سیستم ریشه و افزایش جذب مواد غذایی و تثبیت بیولوژیکی ازت و درنهایت افزایش عملکرد اقتصادی محصول فراهم آورند (Kumar et al., 2017). در تحقیقی بر روی شنبلیله گزارش شد تلقیح با باکتری و میکوریزا با افزایش مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌تواند آسیب‌پذیری گیاه نسبت به اکسیژن‌های فعال را کاهش داده و موجب افزایش تحمل به تنش کم‌آبی در این گیاه شود (Rahimi et al., 2020). سید شریفی و سید شریفی (Seyed sharifi and Seyed sharifi, 2019) نشان دادند که حداکثر محتوای پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در شرایط قطع آبیاری و کاربرد توأم میکوریز و ازتوباکتر به دست آمد. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در کشور و همچنین وجود کم‌آبی در اکثر مناطق کشور تاکنون اثر مواد افزودنی به خاک مانند پلیمر سوپر جاذب و کودهای زیستی در تعدیل اثر تنش کم‌آبی در کرچک انجام نشده است بنابراین این مطالعه با هدف بررسی اثر تلقیح بذر با کودهای زیستی و همچنین

کاربرد سوپرجاذب بر خصوصیات فیزیولوژیک کرچک تحت شرایط مختلف تنش کم‌آبی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در سال‌های زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ و ۹۹-۱۳۹۸ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی ساعتلو ارومیه وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی با ارتفاع ۱۳۴۵ متر از سطح دریا و مشخصات طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۱۵۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۳ دقیقه شمالی اجرا شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت‌پلات فاکتوریل بر پایه طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. عامل اصلی شامل تیمار آبیاری در چهار سطح (۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A) بود؛ عوامل فرعی شامل کاربرد ترکیب کودهای زیستی در چهار سطح (آزوسپریلیوم، سیتروباکتر، تلفیق کاربرد آزوسپریلیوم در سیتروباکتر و شاهد بدون کود) و سوپر جاذب در دو سطح (مصرف سوپر جاذب (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) و عدم مصرف سوپر جاذب) بود که به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. قبل از اجرای آزمایش عملیات شخم و آماده‌سازی زمین و تهیه بستر بذر انجام شد، در این مطالعه سطح ۷۰ میلی‌متر تبخیر به‌عنوان شرایط آبیاری نرمال و سطح ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر به‌عنوان تنش شدید کم‌آبی در نظر گرفته شد (Sadeghi-Bakhtavari and Hazrati et al., 2018).

از خاک مزرعه آزمایشی از دو عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر جهت تعیین خصوصیات فیزیکیوشیمیایی خاک نمونه‌برداری به عمل آمد (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات فیزیک‌وشیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1. Physico-chemical properties of soil

عمق deapth	بافت خاک Texture	شوری Ec × 10^3	pH	درصد اشباع SP	آهک T.N.V	رس clay	لای silt	شن sand	کربن C	N	P	K
cm		dsm^{-1}		%		----------%----------					----ppm----	
0-30	لوم	1.1	8	43	13	26	35	39	0.6	0.06	10.4	250

ابعاد کرت‌های آزمایشی ۱۰ متر طول و ۴ متر عرض بود. فاصله بین بوته‌ها ۳۵ و فاصله بین ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر بود. تراکم مورداستفاده ۳۸ هزار بود که در آن فاصله بین ردیف‌ها و فاصله بوته‌های روی ردیف به ترتیب برابر با ۳۵ و ۷۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شدند.

فاصله بین بلوک‌ها و بین کرت‌ها به ترتیب برابر با دو و یک متر در نظر گرفته شدند. سپس بذرهای کرچک روی پشته‌های آماده‌شده با عمق ۳ سانتی‌متر کشت شدند. کاشت در هر دو سال در تاریخ پنجم اردیبهشت‌ماه انجام شد. در طول فصل رشد، مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت وجین دستی در دو نوبت در مراحل ۴ و ۸ برگی رشد کرچک انجام گرفت و آبیاری کرت‌ها نیز به روش تیپ بود. برای اندازه‌گیری مقدار آب مصرفی در هنگام آبیاری از پارشال فلوم شماره ۴ استفاده شد. دبی آب پارشال فلوم پس از ثابت شدن جریان آب سرریز با استفاده از فرمول زیر اندازه‌گیری شد. پس از تقسیم حجم کل آب لازم بر دبی پارشال فلوم مدت‌زمان ورود آب به هر کرت مشخص شد (Zimmerman, 2002).

$$Q=0.0294h^{2/102} \quad [۱]$$

در این فرمول Q: دبی آب ورودی به پارشال فلوم برحسب لیتر در ثانیه، h: ارتفاع آب در پارشال فلوم برحسب سانتی‌متر است. زمان لازم برای هر کرت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Zimmerman, 2002):

$$t=W/Q \quad [۲]$$

که در این رابطه W= حجم آب لازم (لیتر)، Q= دبی آب ورودی (لیتر در ثانیه)، t= مدت‌زمان آبیاری (ثانیه).

تیمارهای آبیاری به ترتیب بعد از ۷۰ (۳۲۰۰ مترمکعب)، ۱۰۰ (۲۱۵۰ مترمکعب)، ۱۳۰ (۱۵۶۰ مترمکعب) و ۱۶۰ (۷۶۰ مترمکعب) میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر انجام گرفت. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام شد و تا مرحله رسیدگی کپسول‌ها ادامه یافت. کودهای زیستی سیتروباکتر و آزوسپریلیوم هر یک به میزان یک لیتر در هکتار آماده گردید و در زمان ۵۰ درصد گل‌دهی و یک و دو هفته بعد از آن با آب آبیاری در سه نوبت داده شد (Ebrahimi Chamani et al., 2022) و سوپرجاذب قبل از کاشت در

کرت‌های مربوطه با خاک طبق توصیه کارخانه سازنده مخلوط شد. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک یک هفته بعد از آخرین مرحله اعمال تیمارهای کود زیستی انجام شد.

برای اندازه‌گیری کلروفیل ۰/۲۵ گرم برگ تازه و کاملاً توسعه‌یافته برداشت و در هاون چینی خرد شد سپس با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر، در محیط خنک و کم‌نور، ساییده شده تا به‌صورت توده یکنواختی درآمدند مخلوط حاصل در یک بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری ریخته شده و به حجم رسانیده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط به‌دست‌آمده برداشت‌شده و با ۴/۵ میلی-لیتر استون ۸۰٪ مخلوط و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، بخش رویی مخلوط را برداشته‌شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PD-303)، مقدار جذب آن در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ قرائت گردید. غلظت کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (Lichtenthaler and Buschmann, 2001):

$$Cholorophyll\ a\ (mg\ ml^{-1}) = 12.25(A663.2)-2.79(A646.8) \quad [۳]$$

$$Cholorophyll\ b\ (mg/ml) = 21.50(A646.2)-5.10(A663.2) \quad [۴]$$

$$Carotenoid\ (\mu g/ml) = (1000(A470)-1.8(Chla)\ -85.02(Chlb))/198 \quad [۵]$$

به‌منظور تعیین غلظت قندهای محلول، نمونه‌های ۰/۵ گرمی از برگ منجمد شده با نیتروژن مایع، در هاون چینی حاوی پنج میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۲ مول در لیتر با اسیدیته ۶/۷ خردشده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. عصاره جمع‌آوری‌شده، پس از یک ساعت با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Phamacia Biotech Novaspec II. UK) در طول‌موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

غلظت پروتئین‌های محلول به روش برادفورد (Bradford, 1976) تعیین گردید. برای آماده‌سازی و استخراج پروتئین از نمونه‌های برگ که در ازت مایع نگهداری شده بودند، از محلول بافر تریس و برای سنجش آن از معرف بیوراد استفاده شد.

برای تعیین غلظت پرولین، روش بیتس (Bates, 1973) به کار رفت. بدین ترتیب که برای استخراج آن، ۰/۴ گرم از برگ در اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ هموژن شد. پس از ۷۲ ساعت این ماده به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. این محلول پس از ترکیب با اسید استیک و نین‌هیدرین به مدت یک ساعت در حمام آب گرم حرارت داده شد و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Phamacia Biotech Novaspec II. UK) با طول‌موج ۵۲۰ نانومتر مقدار پرولین قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش چانس و مهلی (Chance and Maehley, 1955) انجام شد. برای این کار ۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی با ۳۰۰۰ میکرومول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH =۷ و ۱۰۰ میکرومولار آب اکسیژنه (H_2O_2) خالص مخلوط شدند؛ و این محلول برای مدت یک دقیقه در دمای آزمایشگاه (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. سپس برای توقف فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر پرمنگنات پتاسیم ($KMnO_4$) ۰/۰۱ مولار تا تشکیل رنگ صورتی کم‌رنگ حداقل ۳۰ ثانیه با رنگ ثابت) تیتر شد و بعد فعالیت آنزیم کاتالاز برحسب حجم مصرفی محلول پرمنگنات پتاسیم برحسب درصد کنترل محاسبه گردید.

جهت اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA)، ۰/۳ گرم از بافت تازه گیاهی در سه میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزن به حجم) عصاره گیری شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف‌شده در ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۵ درصد (وزن به حجم) اضافه شد. سپس لوله‌ها حاوی سوسپانسیون از حمام خارج و پس از سرد شدن، میزان مالون دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول‌موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی محاسبه شد (Heath and Packer, 1968).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها پس از بررسی و تأیید برقراری فرض‌های تجزیه واریانس، یعنی نرمال بودن توزیع خطاها، یکنواختی واریانس‌های درون تیماری و اثر افزایشی بلوک (به ترتیب به کمک آزمون شاپیرو-ویلک[1]، توزیع باقیمانده و آزمون غیر افزایشی توکی)، انجام شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و مقایسه میانگین پارامترهای موردبررسی نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد.

[1] Shapiro-Wilk

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب داده‌ها، بین دو سال موردبررسی تنها ازنظر محتوی مالون دی‌آلدئید اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد دیده شد، اختلاف بین سطوح آبیاری ازلحاظ اثر بر کلیه صفات معنی‌دار بود. اثر متقابل سال در آبیاری تنها بر محتوی پرولین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بین تیمارهای کود زیستی و اثر متقابل کود زیستی در آبیاری و سطوح سوپر جاذب ازلحاظ اثر بر کلیه صفات، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. محتوای کلروفیل a و b و محتوی قند محلول در سطح احتمال یک درصد و محتوی پرولین و درصد پروتئین در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر برهمکنش آبیاری و سوپر جاذب قرار گرفت.

اختلاف تیمارهای برهمکنش کود زیستی با سوپر جاذب ازلحاظ محتوای کلروفیل b، قند محلول، محتوی پرولین، محتوی مالون دی‌آلدئید و درصد پروتئین در سطح احتمال یک درصد و ازلحاظ محتوای کلروفیل a، کارتنوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۲).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

در این مطالعه بالاترین محتوی کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید به تیمار تلقیح بذر با سیتروباکتر همراه با تیمار آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر به ترتیب برابر با متوسط ۲۳/۰۰، ۱۴/۹۳ و ۳۰/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ اختصاص داشت. همچنین کمترین مقادیر رنگیزه‌های مذکور به ترتیب با متوسط ۱۸/۳۵، ۹/۲۰ و ۲۵/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به تیمار شاهد تلقیح همراه با دور آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر اختصاص یافت (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیه واریانس مرکب صفات فیزیولوژیک کرچک تحت تیمارهای آبیاری، کود زیستی و سوپرجاذب

Table 2. Combined analysis of variance of castor traits under irrigation and biosorbent irrigation treatment

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll a	کارتنوئید Cartonoid	قند محلول Soluble sugar
Y (Year)	سال	1	68.84^{ns}	42.24 ^{ns}	20.17^{ns}	760.33^{ns}
Repeat (year)	تکرار (سال)	4	44.11	7.16	34.17	690.57
Irrigation (I)	آبیاری	3	12.57**	112.21**	46.98**	1379.18**
Y×I	سال×آبیاری	3	1.33 ^{ns}	0.85 ^{ns}	0.82 ^{ns}	18.75^{ns}
E_b	خطای b	12	0.60	0.65	0.69	19.98
Bio-fertilizer (B)	کود زیستی	3	45.87 **	54.15**	5.75**	441.70**
I × B	آبیاری×کود زیستی	9	3.43 **	5.38 **	2.37 **	130.44**
Y×B	سال×کود زیستی	3	0.24 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.30 ^{ns}	12.04^{ns}
Y×I× B	سال×آبیاری×کود زیستی	9	0.49 ^{ns}	0.49 ^{ns}	0.71 ^{ns}	17.32^{ns}
Super absorbent (S)	سوپر جاذب	1	8.29**	13.13**	4.29*	234.08**
Y×S	سال×سوپر جاذب	3	0.0002 ^{ns}	1.05 ^{ns}	0.56 ^{ns}	28.52^{ns}
I × S	آبیاری×سوپر جاذب	3	3.31**	2.31**	0.49 ^{ns}	172.50**
Y×I×S	سال×آبیاری سوپر جاذب	3	0.33^{ns}	0.81 ^{ns}	0.54 ^{ns}	18.02^{ns}
B×S	کود زیستی×سوپر جاذب	3	1.31*	2.87**	2.78*	220.68**
Y×B×S	سال×کود زیستی×سوپر جاذب	3	0.24 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.10 ^{ns}	10.31^{ns}
I×B×S	آبیاری×کود زیستی×سوپر جاذب	9	0.46 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.66 ^{ns}	18.67^{ns}
Y×I×B×S	سال×آبیاری×کود زیستی×سوپر جاذب	9	0.49 ^{ns}	0.41 ^{ns}	0.80 ^{ns}	19.57^{ns}
E_c	خطای c	112	0.48	0.44	0.84	17.14
C.V%	ضریب تغییرات ٪		*3.37*	*6.10*	*3.25*	*3.39*

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	مالون دی‌آلدئید Malod dialdehyde	درصد پروتئین protein
Y (Year)	**سال**	1	82.63^{ns}	1142.10^{ns}	16943.26**	179.10^{ns}
Repeat (year)	**تکرار (سال)**	4	552.41	535.90	4461.97	47.87
Irrigation (I)	**آبیاری**	3	93.10*	1789.34**	3697.73**	7.80^{ns}
Y×I	**سال×آبیاری**	3	3.53**	5.44^{ns}	19.99^{ns}	1.49**
E_b	**خطای b**	12	0.32	15.47	17.60	0.21
Bio-fertilizer (B)	**کود زیستی**	3	67.44**	342.02**	90.44**	2.85**
I × B	**آبیاری×کود زیستی**	9	11.17**	20.95**	150.68**	6.55**
Y×B	**سال×کود زیستی**	3	0.14^{ns}	0.43^{ns}	2.33^{ns}	0.37^{ns}
Y×I× B	**سال×آبیاری×کود زیستی**	9	0.33^{ns}	4.67^{ns}	21.96^{ns}	0.52^{ns}
Super absorbent (S)	**سوپر جاذب**	1	21.88**	70.38**	1400.76**	4.76**
Y×S	**سال×سوپر جاذب**	3	0.005^{ns}	0.0006^{ns}	0.70^{ns}	0.24^{ns}
I × S	**آبیاری×سوپر جاذب**	3	8.35**	5.97^{ns}	1.98^{ns}	1.80*
Y×I×S	**سال×آبیاری سوپر جاذب**	3	0.39^{ns}	3.76^{ns}	20.25^{ns}	0.59^{ns}
B×S	**کود زیستی×سوپر جاذب**	3	16.56**	14.78*	300.35**	2.77**
Y×B×S	**سال×کود زیستی×سوپر جاذب**	3	0.35^{ns}	0.50^{ns}	4.14^{ns}	0.41^{ns}
I×B×S	**آبیاری×کود زیستی×سوپر جاذب**	9	3.38^{ns}	2.90^{ns}	13.55^{ns}	0.44^{ns}
Y×I×B×S	**سال×آبیاری×کود زیستی×سوپر جاذب**	9	0.31^{ns}	5.23^{ns}	21.24^{ns}	0.60^{ns}
E_C	**خطای c**	112	2.89	4.00	18.51	0.65
C.V%	**ضریب تغییرات ٪**		*4.25*	*4.53*	*5.35*	*4.58*

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد آماری

ns, * and ** not significant and significant at the level of five and one percent statistical probability, respectively

در این بررسی کاربرد سیتروباکتر در سطوح ۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر محتوی کلروفیل a را در مقایسه با تیمار شاهد کود زیستی به ترتیب ۹/۸۳، ۱۲/۰۶، ۸/۲۱ و ۲/۸۸ درصد افزایش داد. در این بررسی کاربرد سیتروباکتر تحت شرایط آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر مناسب‌ترین ترکیب تیماری ازلحاظ محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی بود. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش کم‌آبی می‌تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آن‌ها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم های تجزیه‌کننده کلروفیل ازجمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (Naeem et al., 2018). کاهش مقدار کاروتنوئیدها در شرایط تنش نیز به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانترین در چرخه گزانتوفیل باشد (Ahmadi and Siosemardeh, 2004). کاهش محتوی کلروفیل برگ در اثر تیمارهای تنش کم‌آبی در گیاه کرچک در مطالعه اوسطی و همکاران (Osati et al., 2020) نیز گزارش شده است. در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2019) بر روی عدس تنش کم‌آبی به‌صورت معنی‌داری محتوی کلروفیل کل برگ را کاهش داد اما استفاده از کودهای زیستی و شیمیایی اثر تنش کم‌آبی را بر محتوی کلروفیل کاهش داد. امانی و همکاران (Amani et al., 2017) اظهار داشتند استفاده از کودهای زیستی به دلیل حضور باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و تأمین مناسب نیتروژن موردنیاز گیاه باعث می‌شود گیاه، نیتروژن لازم جهت تهیه کلروفیل را در اختیار داشته باشد. همچنین یکی دیگر از دلایل حفظ مقدار بالای کلروفیل در تیمارهای استفاده از کودهای زیستی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی این مواد است، این کودها به‌واسطه

جدول ۳. مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و کودهای زیستی ازلحاظ اثر بر صفات موردبررسی در گیاه کرچک

Table 3. Mean comparison of interaction effects of irrigation of and Bio-fertilizer on studied traits of Castor

آبیاری irrigation	Bio-fertilizer	کود زیستی	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Cartonoid	قند محلول Soluble sugar
			----------mg.g^{-1}----------			µmol g $^{-1}$FW
	Control	شاهد	20.94^{ef}	12.04^{c}	28.99^{bc}	107.50^{k}
۷۰ میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	19.26^{jk}	11.74^{c}	29.41^{b}	111.42^{j}
70 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	23.00^{a}	14.93^{a}	30.49^{a}	113.33^{i}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	22.54^{ab}	11.89^{c}	30.55^{a}	115.92^{h}
	Control	شاهد	19.40^{ijk}	10.18^{gh}	28.11^{def}	119.33^{fg}
۱۰۰میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	19.62^{hij}	10.42^{fg}	28.62^{cde}	120.33^{ef}
100 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	21.74^{cd}	12.43^{b}	28.69^{cd}	118.83^{g}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	20.59^{f}	11.20^{d}	28.87^{bc}	119.75^{efg}
	Control	شاهد	20.46^{fg}	9.81^{hi}	27.42^{fg}	120.83^{e}
۱۳۰ میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	20.02^{gh}	9.99^{hi}	27.92^{ef}	124.50^{d}
130 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	22.14^{bc}	10.70^{ef}	28.13^{def}	126.25^{c}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	20.80^{ef}	10.83^{e}	28.02^{def}	126.33^{c}
	Control	شاهد	18.35^{l}	9.20^{j}	25.56^{i}	125.33^{cd}
۱۶۰میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	19.78^{hi}	9.70^{i}	27.12^{gh}	128.83^{b}
160 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	18.88^{k}	10.58^{ef}	27.11^{gh}	129.00^{b}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	18.30^{dk}	10.40^{fg}	26.45^{h}	131.42^{a}

Table 3. Continued **جدول ۳. ادامه**

آبیاری irrigation	Bio-fertilizer	کود زیستی	پرولین Prolin	کاتالاز Catalase	مالون دی‌آلدئید Malod di aldehyde	درصد پروتئین protein contrnt
			µmol g^{-1}FW	ΔA240 mg^{-1} protein	nmol g^{-1}FW	%
	Control	شاهد	23.83^{k}	39.22^{k}	133.41^{g}	4.47^{i}
۷۰ میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	25.16^{jk}	35.98^{n}	134.13^{g}	4.69^{i}
70 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	25.91^{j}	32.97^{o}	132.44^{g}	5.15^{h}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	27.41^{i}	37.96^{m}	130.48^{g}	5.07^{h}
	Control	شاهد	29.58^{h}	44.51^{g}	144.70^{f}	5.43^{g}
۱۰۰میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	30.83^{gh}	41.30^{j}	145.07^{f}	5.64^{g}
100 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	31.83^{g}	38.55^{l}	143.75^{f}	6.14^{f}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	34.91^{f}	43.28^{h}	146.57^{ef}	6.32^{f}
	Control	شاهد	40.66^{e}	48.50^{d}	156.73^{ab}	7.28^{e}
۱۳۰ میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	41.16^{e}	45.29^{f}	150.12^{cde}	7.36^{e}
130 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	46.66^{d}	42.54^{i}	148.78^{de}	8.55^{d}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	47.00^{d}	47.27^{e}	150.59^{cd}	8.33^{d}
	Control	شاهد	47.66^{d}	54.20^{a}	159.65^{a}	8.44^{d}
۱۶۰میلی‌متر	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	53.50^{c}	50.77^{c}	154.71^{b}	9.42^{c}
160 mm	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	61.50^{b}	47.71^{e}	153.75^{bc}	11.08^{b}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	65.91^{a}	53.16^{b}	149.99^{de}	11.48^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند

In each column, averages with common character do not have a significant difference at the 5% level

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، گونه‌های فعال اکسیژن که در اثر تنش کم‌آبی تولید می‌شوند را پاک‌سازی کرده، نشت الکترولیت برگ را کاهش داده و درنتیجه بر پایداری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی خواهند افزود (Babaei et al., 2017).

از اثرات مفید دیگر کاربرد کودهای زیستی می‌توان به کاهش محتوی اتیلن به‌واسطه دسترسی بالای گیاه به نیتروژن تثبیت‌شده اشاره کرد، در اثر تنش‌های محیطی به‌خصوص تنش خشکی، محتوی اتیلن برگ افزایش نشان می‌دهد، افزایش اتیلن پیری برگ را تسریع کرده و از محتوی کلروفیل برگ می‌کاهد؛ در حضور کودهای زیستی حاوی ACC دی آمیناز سنتز اتیلن به‌صورت قابل‌توجهی کاهش می‌یابد این فرایند موجب کاهش تجزیه کلروفیل و پیری برگ خواهد شد (Vessey et al., 2003). در تحقیقی بر روی گندم، یقینی و همکاران (Yaghini et al., 2020) نشان دادند بالاترین محتوی کلروفیل a، b و کارتنوئید به تیمار تلقیح توأم بذر با آزوسپریلیوم و میکوریزا و آبیاری تکمیلی و کمترین مقدار به تیمار شاهد کودهای زیستی تحت شرایط تنش کم‌آبی اختصاص داشت. در تحقیقی دیگر بر روی آفتابگردان بهبود شاخص کلروفیل در گیاه آفتابگردان در اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد تحت شرایط تنش کم‌آبی گزارش شد (Seyed Sharifi and Seyed Sharifi, 2019).

مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری با سوپرجاذب ازلحاظ محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد کاربرد سوپر جاذب در دور آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر به ترتیب با متوسط ۲۱/۲۹ و ۱۲/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بالاترین محتوی کلروفیل a و b را به خود اختصاص دادند، همچنین کمترین محتوی رنگیزه‌های مذکور به تیمار عدم کاربرد سوپرجاذب در دور آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر مشاهده شد (جدول ۴). نتایج همچنین نشان داد تنها در دور آبیاری بعد از ۱۰۰ میلی‌متر تبخیر کاربرد سوپر جاذب توانست به‌صورت معنی‌داری محتوی کلروفیل را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دهد. تخریب غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست و اکسیداسیون نوری کلروفیل در اثر گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز ازجمله دلایل کاهش کلروفیل در شرایط کمبود آب است، بنابراین کاربرد سوپرجاذب میزان فرآیندهای تخریب‌کننده کلروفیل را کاهش داده و درنتیجه محتوی کلروفیل برگ با کاربرد کود سوپرجاذب بهبود می‌یابد.

یکی از دلایل افزایش محتوی کلروفیل برگ در اثر کاربرد سوپر جاذب می‌تواند به دلیل افزایش دسترسی گیاه به آب و جذب نیتروژن به‌وسیله گیاه در شرایط کم‌آبی باشد (Mortazavy et al., 2016). بهبود محتوی کلروفیل برگ در اثر کاربرد سوپر جاذب در مطالعه محمودی و افکاری (Mahmoudi and Afkari, 2020) بر روی گندم و توحیدی مقدم و همکاران (Tohidi Moghadam et al., 2009) نیز گزارش شده است. رازبان و پیرزاد (Razban and Pirzad, 2012) بالاترین محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی را در گیاه بابونه آلمانی در تیمار آبیاری نرمال و کاربرد حداکثر مقدار سوپر جاذب (۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) ثبت کردند. در مطالعه عبادی و همکاران (Ebadi et al., 2021) بالاترین محتوی کلروفیل در جو تحت شرایط آبیاری تکمیلی و تلقیح بذر با ازتوباکتر و مایکوریزا گزارش شد درحالی‌که کمترین محتوی کلروفیل به شرایط دیم و عدم تلقیح با کود زیستی اختصاص یافت. در مطالعه‌ای دیگر بر روی کرچک مشاهده شد محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش کم‌آبی کاهش یافتند اما محلول‌پاشی اسید هیومیک و نانو ذرات روی محتوی رنگیزه‌ها را تحت شرایط تنش کم‌آبی افزایش دادند (Rahbari et al., 2021).

در بین تیمارهای اثر متقابل کود زیستی با سوپرجاذب تلقیح بذر با آزوسپریلیوم همراه با کاربرد سوپر جاذب به ترتیب با متوسط ۲۲/۲۵ و ۱۳/۷۹ و ۲۹/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بالاترین و تیمار عدم کاربرد سوپر جاذب و عدم تلقیح بذر به ترتیب با متوسط ۱۸/۵۶، ۹/۸۳ و ۲۷/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر کمترین محتوی رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید را به خود اختصاص دادند (جدول ۵). در این بررسی کاربرد سوپر جاذب و تلقیح بذر اثر هم‌افزایی در بهبود محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان دادند. به نظر می‌رسد هر دو تیمار از طریق بهبود شرایط محیطی (فراهم‌سازی آب و عناصر غذایی) توانسته‌اند اثر مثبتی بر بهبود محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی داشته باشند. در تحقیقی بر روی نخود بالاترین شاخص کلروفیل برگ در تلفیق تیماری کود زیستی و سوپرجاذب گزارش شد (Hasanpour et al., 2020).

قند محلول

مقایسات میانگین ترکیبات تیماری دور آبیاری و تلقیح بذر ازلحاظ اثر بر محتوی قند محلول نشان داد با تشدید تنش کم‌آبی بر محتوی قند محلول افزوده شد و تلقیح بذر با کود

زیستی نیز این افزایش را تشدید کرد به‌نحوی‌که تلقیح بذر با آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر در دور آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۳۱/۴۲ میکرو مول برگرم وزن تر برگ بالاترین و تیمار شاهد کود زیستی در دور آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۰۷/۵۰ میکرو مول برگرم وزن تر برگ کمترین محتوی صفت مذکور را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). زمانی که گیاه تحت شرایط تنش به‌خصوص تنش کم‌آبی قرار می‌گیرد تجمع انواع محلول‌های سازگار مانند قندها در داخل اندام‌ها تشدید می‌شود، این املاح ترکیبات آلی هستند که وزن مولکولی آن‌ها پایین و بسیار محلول می‌باشند، این مواد با تنظیم اسمزی، پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن و محافظت از پایداری غشاء و محافظت از ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، گیاه را در برابر اثرات ناشی از تنش کم‌آبی محافظت می‌کنند (Farooq et al., 2009). تجمع این مواد در اثر تنش‌های غیر زیستی در مطالعات دیگری نیز به اثبات رسیده است (Kheirizadeh Arough et al., 2016; Cattivelli et al., 2008). افزایش تولید قندهای محلول در واکنش به تلقیح بذر با کودهای زیستی ممکن است به دلیل افزایش جذب عناصر مختلف غذایی به‌خصوص نیتروژن باشد. گزارش شده است که کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش، موجب انباشت پرولین و قندهای محلول در جهت تنظیم اسمزی گیاه می‌شود (Kheirizadeh et al., 2016). سید شریفی و سید شریفی (Seyed Sharifi and Seyed Sharifi, 2019) نشان دادند استفاده از کودهای زیستی میکوریزا، ازتوباکتر و کاربرد هم‌زمان این دو کود زیستی تحت شرایط تنش کم‌آبی بر محتوی قندهای محلول افزود.

جدول ۴. مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و سوپرجاذب ازلحاظ اثر بر صفات موردبررسی در گیاه کرچک

Table 4. Mean comparison of interaction effects of irrigation of and Super absorbent on studied traits of Castor

آبیاری Irrigation	سوپرجاذب Super absorbent		کلروفیلa Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Cartonoid	قند محلول Soluble sugar
			----------mg.g^{-1}----------			µmol g^{-1}FW
۷۰ میلی‌متر	Control	شاهد	20.55^{b}	11.27^{b}	29.57^{a}	111.58^{e}
70 mm	Use	کاربرد	21.29^{a}	12.78^{a}	30.15^{a}	112.50^{e}
۱۰۰میلی‌متر	Control	شاهد	20.83^{b}	10.89^{c}	28.57^{a}	119.83^{d}
100 mm	Use	کاربرد	21.35^{a}	11.23^{b}	28.57^{a}	119.29^{d}
۱۳۰ میلی‌متر	Control	شاهد	20.16^{cd}	10.53^{d}	27.84^{a}	124.38^{c}
130 mm	Use	کاربرد	20.52^{bc}	10.80^{c}	27.9^{a}	124.58^{c}
۱۶۰میلی‌متر	Control	شاهد	20.03^{de}	10.06^{e}	26.25^{a}	128.17^{b}
160 mm	Use	کاربرد	19.70^{e}	10.46^{d}	26.88^{a}	129.12^{a}

جدول ۴. ادامه

Table 4. Continued

آبیاری Irrigation	سوپرجاذب Super absorbent		پرولین Prolin	کاتالاز Catalase	مالون دی‌آلدئید Malod di aldehyde	درصد پروتئین protein contrnt
			µmol g^{-1}FW	ΔA240 mg^{-1} protein	nmol g^{-1}FW	%
۷۰ میلی‌متر	Control	شاهد	24.66^{h}	37.08^{f}	129.12^{a}	4.69^{h}
70 mm	Use	کاربرد	26.50^{g}	35.99^{g}	136.11^{a}	5.00^{g}
۱۰۰میلی‌متر	Control	شاهد	31.20^{f}	42.38^{d}	142.56^{a}	5.78^{f}
100 mm	Use	کاربرد	32.37^{e}	41.44^{e}	147.48^{a}	5.98^{e}
۱۳۰ میلی‌متر	Control	شاهد	42.66^{d}	46.37^{b}	147.87^{a}	7.68^{d}
130 mm	Use	کاربرد	45.08^{c}	45.43^{c}	151.87^{a}	8.08^{c}
۱۶۰میلی‌متر	Control	شاهد	55.58^{b}	51.64^{a}	152.71^{a}	9.85^{b}
160 mm	Use	کاربرد	58.70^{a}	51.29^{a}	159.71^{a}	10.37^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند

In each column, averages with common character do not have a significant difference at the 5% level

نتایج نشان داد کاربرد سوپر جاذب تحت شرایط آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۲۹/۱۲ میکرومول برگرم وزن تر برگ بالاترین و تیمار شاهد سوپر جاذب تحت شرایط آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۱۱/۵۸ میکرومول برگرم وزن تر برگ، کمترین محتوی قند محلول را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). استفاده از مواد پلیمری سوپرجاذب با ذخیره و حفظ رطوبت در خاک و در دسترس قرار دادن تدریجی آن برای گیاهان از بروز آثار کم‌آبی ازجمله کاهش مواد جامد محلول جلوگیری می‌کنند. در مطالعه صیدی و همکاران (Saidi et al., 2014) بالاترین محتوی قند محلول در گیاه گوجه‌فرنگی به تیمار تنش کم‌آبی و کاربرد سوپرجاذب اختصاص داشت. همچنین در تحقیقی بر روی هیبریدهای جدید ایرانی آفتابگردان زارعی، سیاه بیدی و رضایی راد (Zareei Siahbidi and Rrezaizad, 2018) گزارش کردند مصرف سوپر جاذب تحت شرایط تنش کم‌آبی محتوی قندهای محلول را افزایش داد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد استفاده همزمان از سوپرجاذب و کودهای زیستی محتوی قند محلول را افزایش داد، به‌نحوی‌که تلقیح بذر با آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر همراه با کاربرد سوپر جاذب با متوسط ۱۲۳/۸۳ میکرو مول برگرم وزن تر برگ بالاترین محتوی قند محلول را به خود اختصاص داد؛ درحالی‌که کمترین مقدار صفت مذکور با متوسط ۱۱۷/۰۸ میکرو مول برگرم وزن تر برگ در تیمار عدم کاربرد سوپر جاذب و عدم تلقیح با کود زیستی مشاهده شد (جدول ۵). اثر مثبت کود زیستی و سوپر جاذب بر محتوی قند در چغندرقند در مطالعه خلیلی و حمزه (Khalili and Hamze, 2021) نیز گزارش شد. همچنین در تحقیقی بر روی کلزا کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد و سوپرجاذب محتوی قندهای محلول را افزایش دادند که همسو با نتایج مطالعه حاضر است (Valipour et al., 2021).

پرولین

نتایج مقایسات میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری با کود زیستی نشان داد تشدید تنش کم‌آبی و تلقیح بذر با کودهای زیستی به‌خصوص سیتروباکتر و آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر بر محتوی پرولین افزود، به‌طوری‌که تیمار آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر در دور آبیاری ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۶۵/۹۱ میکرو مول برگرم وزن تر برگ بالاترین و تیمار عدم تلقیح با کود زیستی در دور آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر با متوسط ۲۳/۸۳ میکرو مول برگرم وزن تر کمترین محتوی پرولین را به خود اختصاص دادند (جدول ۳)، در این بررسی دو تیمار تلقیح با سیتروباکتر و آزوسپریلیوم+سیتروباکتر در هر چهار دور آبیاری توانستند به‌صورت معنی‌داری محتوی پرولین را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دهند. یکی از اجزای تشکیل‌دهنده پرولین نیتروژن است کاربرد کودهای زیستی احتمالاً از طریق تثبیت و مهیاسازی نیتروژن محتوی پرولین را افزایش داده‌اند (Salehi et al., 2016). تجمع پرولین در گیاه تحت شرایط تنش رطوبتی به دلیل کارکردهای مختلف این ماده موجب افزایش مقاومت در گیاه می‌شود (Hamurcu et al., 2020). گزارش شده است که تحت شرایط تنش کم‌آبی پرولین و قندهای محلول در گیاهان نقش تنظیم اسمزی، انتقال سیگنال، حفظ تعادل ردوکس و ثبات ساختار سلولی در گیاهان را بر عهده دارند (Ghafari et al., 2019). چندین مطالعه نشان داده‌اند که پرولین و قندهای محلول در تحمل به خشکی و سازگاری در طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی نقش دارند (Zhang et al., 2020). در تحقیقی بر روی عدس بالاترین محتوی پرولین برگ در تیمار تنش شدید کم‌آبی و کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی گزارش شد (Mohammadi et al., 2019). در تحقیقی بر روی کرچک اوسطی و همکاران (Osati et al., 2020) نشان دادند با تشدید تنش کم‌آبی محتوی پرولین برگ افزایش یافت.

مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل دور آبیاری با سوپر جاذب نشان داد کاربرد سوپر جاذب در دور آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۵۲/۷۰ میکرو مول برگرم وزن تر برگ بالاترین و تیمار عدم کاربرد سوپر جاذب در دور آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۲۴/۶۶ میکرو مول برگرم وزن تر، کمترین محتوی پرولین برگ را به خود اختصاص دادند. نتایج نشان داد کاربرد سوپر جاذب در کلیه سطوح آبیاری بر محتوی پرولین برگ افزود (جدول ۴). در تحقیقی بر روی بابونه آلمانی رازبان و پیرزاد (Razban and Pirzad, 2012) دریافتند تنش کم‌آبی و کاربرد پلیمر سوپرجاذب بر محتوی پرولین برگ افزود، همچنین قلی نژاد و عیوضی (Gholinezhad and Eivazi, 2019) نشان دادند تنش کم‌آبی و کاربرد سوپر جاذب محتوی پرولین برگ را در تیمارهای مختلف آبیاری به‌صورت معنی‌داری افزایش داد؛ که همسو با نتایج تحقیق حاضر است. همچنین در تحقیقی بر

روی گیاه ماش، بالاترین محتوی پرولین در این گیاه به تیمار دور آبیاری بعد از ۱۴ روز و عدم کاربرد سوپر جاذب اختصاص داشت (Soheilnejad et al., 2018). افزایش محتوی پرولین تحت تأثیر تیمارهای تنش کم‌آبی و کاربرد سوپر جاذب در مطالعه زارعی سیاهبیدی و رضایی زاد (Zareei Siahbidi and Rrezaizad, 2018) بر روی آفتابگردان نیز گزارش شده است.

نتایج مقایسات میانگین نشان داد بالاترین و پایین‌ترین محتوی پرولین به ترتیب با متوسط ۴۴/۴۵ و ۳۴/۹۵ (میکرو مول برگرم وزن تر برگ) به تیمار کاربرد سوپرجاذب و تلقیح با کود زیستی آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر و تیمار عدم کاربرد سوپر جاذب و تلقیح بذر اختصاص داشت، لازم به ذکر است که در هر دو تیمار کاربرد و عدم کاربرد سوپر جاذب، تلقیح بذر با کود زیستی بر محتوی پرولین برگ افزود (جدول ۵). در مطالعه ولی پور و همکاران (Valipour et al., 2021) محتوی پرولین در گیاه کلزا به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر باکتری‌های محرک رشد، نانوسوپرجاذب و کیتوسان قرار گرفت.

جدول ۵. مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل کود زیستی و سوپرجاذب ازلحاظ اثر بر صفات موردبررسی در گیاه کرچک

Table 5. Mean comparison of interaction effects of Bio-fertilizer of and Super absorbent on studied traits of Castor.

سوپرجاذب Super absorbent	Bio-fertilizer	کود زیستی	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Cartonoid	قند محلول Soluble sugar
			----------mg.g^{-1}----------			µmol g^{-1}FW
شاهد Control	Control	شاهد	18.56^{e}	9.83^{e}	27.27^{e}	117.08^{f}
	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	19.64^{d}	10.05^{de}	27.76^{de}	119.42^{e}
	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	19.87^{d}	10.17^{d}	28.10^{cd}	121.67^{cd}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	19.82^{d}	10.23^{d}	28.43^{bc}	120.87^{d}
کاربرد Use	Control	شاهد	21.44^{b}	11.78^{b}	28.19^{bcd}	121.38^{d}
	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	22.25^{a}	13.79^{a}	29.02^{a}	122.33^{bc}
	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	20.57^{c}	10.97^{c}	28.67^{ab}	123.83^{a}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	22.28^{a}	11.19^{c}	28.27^{bc}	122.88^{b}

Table 5. Continued **جدول ۵. ادامه**

سوپرجاذب Super absorbent	Bio-fertilizer	کود زیستی	پرولین Prolin	کاتالاز Catalase	مالون دی‌آلدئید Malod di aldehyde	درصد پروتئین protein contrnt
			µmol g^{-1}FW	ΔA240 mg $^{-1}$ protein	nmol g $^{-1}$FW	%
شاهد Control	Control	شاهد	34.95^{e}	46.77^{a}	150.37^{a}	6.32^{f}
	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	35.91^{de}	46.45^{a}	150.33^{a}	6.48^{ef}
	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	36.08^{d}	43.85^{c}	148.82^{a}	6.51^{e}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	39.25^{c}	42.83^{d}	143.20^{bc}	7.04^{d}
کاربرد Use	Control	شاهد	39.91^{c}	41.31^{e}	143.70^{bc}	7.47^{c}
	Azospirillium (A)	آزوسپریلیوم	43.04^{b}	39.58^{f}	145.65^{b}	7.99^{a}
	Citrobacter (C)	سیتروباکتر	43.16^{b}	45.55^{b}	141.82^{c}	7.69^{b}
	A+ C	آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر	44.45^{a}	45.29^{b}	143.54^{bc}	7.91^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند

In each column, averages with common character do not have a significant difference at the 5% level

فعالیت آنزیم کاتالاز

در این بررسی با تشدید تنش کم‌آبی بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز افزوده شد، بااین‌وجود تیمار با کودهای زیستی موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم مذکور شد؛ به‌طوری‌که تلقیح بذر با تیمار کود زیستی سیتروباکتر توانست مقدار فعالیت آنزیم مذکور را در مقایسه با تیمار شاهد کود زیستی در هر دور

آبیاری به ترتیب ۱۵/۹۳، ۱۳/۳۹، ۱۲/۲۸ و ۱۱/۹۷ درصد کاهش دهد. در این آزمایش تیمار شاهد کود زیستی در دور آبیاری بعد از ۱۶۰میلی‌متر بیشترین و تیمار ستروباکتر در دور آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر کمترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

کاهش قابل‌توجه محتوی آنزیم کاتالاز در اثر کاربرد کودهای زیستی نیتروژن در سطوح مختلف خشکی، نشانگر تأثیر بیشتر منابع کود نیتروژن بر کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در گیاه کرچک است. با توجه به اینکه تغذیه مناسب گیاهی در بالا بردن سطح تحمل گیاهان در برابر انواع تنش‌ها نقش بسزایی دارد (Stamenkovic et al., 2018)

در مطالعه حاضر احتمالاً تأمین مناسب و تدریجی نیتروژن، به‌واسطه حضور باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در کودهای زیستی، توانسته از طریق فراهم کردن شرایط مناسب‌تر رشد برای گیاه، اثرات تنش بر کرچک را کاهش دهد و درنتیجه آن، گیاه مقدار کاتالاز کمتری تولید کرده است. در مطالعه امیر یوسفی و همکاران (Amirusefi et al., 2020) کاربرد کودهای زیستی نیتروژنه مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز را تحت شرایط تنش کم‌آبی کاهش داد که همسو با نتایج مطالعه حاضر است.

نتایج نشان داد کاربرد سوپرجاذب در تیمارهای آبیاری ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ میلی‌متر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز را در مقایسه با تیمار عدم کاربرد به ترتیب ۳/۰۲، ۲/۲۶ و ۲/۰۶ درصد کاهش داد. تحت شرایط آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر اختلاف بین تیمار کاربرد و عدم کاربرد سوپر جاذب معنی‌دار نبود. کریمی و همکاران (Karimi et al., 2021) در تحقیقی بر روی ذرت مشاهده کردند بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب به تیمارهای آبیاری پس از تخلیه ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم کاربرد سوپرجاذب و آبیاری پس از تخلیه ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب اختصاص داشت.

در بین تیمارهای اثر متقابل سوپرجاذب و کود زیستی، تیمار عدم کاربرد سوپرجاذب و تلقیح بذر با کود زیستی و همچنین تلقیح با آزوسپریلیوم به ترتیب با متوسط ۴۶/۷۷ و ۴۶/۴۵ واحد بیشترین و تیمار کاربرد سوپر جاذب همراه با تلقیح بذر با آزوسپریلیوم با متوسط ۳۹/۵۸ Δ A240/mg protein کمترین مقدار فعالیت آنزیم مذکور را به خود اختصاص داد، همان‌طوری که مشاهده می‌شود کاربرد هم‌زمان دو تیمار کود زیستی و سوپر جاذب از مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز کاست (جدول ۵). به نظر می‌رسد کاربرد هم‌زمان کودهای زیستی و سوپرجاذب به‌واسطه بهبود شرایط محیطی برای رشد تحت شرایط تنش کم‌آبی به‌خصوص ذخیره و مهیاسازی آب و مواد غذایی گیاه را تا حدودی از قرار گرفتن در معرض تنش محافظت کرده است بنابراین گیاه نیازی به تولید و فعال کردن بیش‌ازاندازه آنزیم کاتالاز که نیازمند صرف انرژی است نداشته است و محتوی این آنزیم کاهش نشان داده است، در تحقیقی بر روی کلزای بهاره گزاش شد تلفیق با باکتری‌های محرک رشد و استفاده از نانوسوپر جاذب از مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز کاست (Valipour et al., 2021).

مالون دی‌آلدئید

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل دور آبیاری با تلقیح بذر با کود زیستی نشان داد با تشدید تنش کم‌آبی بر مقدار پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی (مالون دی‌آلدئید) افزوده شد، اما تلقیح با کود زیستی سیتروباکتر تحت تیمارهای آبیاری بعد از ۱۳۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر محتوی مالون دی‌آلدئید را در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۵/۰۷ و ۳/۶۹ درصد کاهش داد. تحت شرایط آبیاری بعد از ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌متر تبخیر تیمار با کودهای زیستی نتوانست محتوی آنزیم مالون دی‌آلدئید را تحت تأثیر قرار دهد. در مطالعه حاضر بالاترین محتوی مالون دی‌آلدئید به تیمار شاهد کود زیستی همراه تحت شرایط آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۵۹/۶۵ نانومول بر گرم وزن تر اختصاص یافت، کمترین مقدار نیز به تیمارهای شاهد، آزوسپریلیوم، سیتروباکتر و آزوسپریلیوم+سیتروباکتر تحت تیمار آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر به ترتیب با متوسط ۱۳۳/۴۱، ۱۳۴/۱۳، ۱۳۲/۴۴ و ۱۳۰/۴۸ نانومول بر گرم وزن تر مشاهده شد (جدول ۳). در مطالعه عبادی و همکاران (Ebadi et al., 2021) آبیاری تکمیلی و تلقیح بذر با کودهای زیستی مقدار فعالیت مالون دی‌آلدئید را در مقایسه با شرایط دیم و عدم تلقیح با کود زیستی به‌صورت معنی‌داری کاهش داد.

در بین تیمارهای کاربرد سوپرجاذب و تلقیح بذر با کودهای زیستی بالاترین مقدار آنزیم مالون دی‌آلدئید برای تیمار عدم کاربرد سوپرجاذب و تیمار شاهد کود زیستی با متوسط ۱۵۰/۳۷ nmol g^{-1} FW ثبت شد؛ بین این تیمار و تیمار تلقیح با آزوسپریلیوم و سیتروباکتر ازنظر مالون دی‌آلدئید اختلاف معنی‌دار نبود، در این بررسی کمترین

مقدار فعالیت مالون دی‌آلدئید به تیمار کاربرد سوپرجاذب همراه با تلقیح بذر با سیتروباکتر با متوسط ۱۴۱/۸۲ nmol/gFW اختصاص یافت (جدول ۵). کاهش محتوی مالون دی‌آلدئید در گندم در تیمار کاربرد سوپر جاذب در مطالعه ولی پور و همکاران نیز گزارش شده است (Valipour et al., 2021).

درصد پروتئین

بر اساس نتایج مقایسه میانگین ترکیبات تیماری دور آبیاری با تلقیح با کود زیستی تنش کم‌آبی و تلقیح با کود زیستی به‌خصوص تلقیح بذر با سیتروباکتر و آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر اثر هم‌افزایی در افزایش درصد پروتئین داشتند. در این بررسی تیمار تلقیح بذر با آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر در دور آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۱/۴۸ درصد، بالاترین درصد پروتئین را به خود اختصاص داد کمترین مقدار صفت مذکور به ترتیب با متوسط ۴/۴۷ و ۴/۶۹ درصد در تیمار شاهد و آزوسپریلیوم کود زیستی ثبت شد، در این بررسی تیمارهای کود زیستی سیتروباکتر و آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر درصد پروتئین را در هر چهار تیمار آبیاری به‌صورت معنی‌داری افزایش دادند (جدول ۳).

در بین تیمارهای اثر متقابل دور آبیاری و کاربرد سوپر جاذب، بالاترین درصد پروتئین به تیمار کاربرد سوپر جاذب در دور آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۱۰/۳۷ درصد اختصاص داشت، کمترین مقدار نیز به تیمار شاهد در دور آبیاری بعد از ۷۰ میلی‌متر تبخیر با متوسط ۵/۰۰ درصد اختصاص داشت. نتایج نشان داد کاربرد سوپر جاذب در تیمارهای آبیاری بعد از ۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر محتوی پروتئین را در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۶/۵۳، ۳/۳۴، ۵/۲۵ و ۵/۲۸ درصد افزایش داد (جدول ۴). در تحقیقی بر روی آفتابگردان گزارش شد کاربرد سوپر جاذب تحت شرایط تنش کم‌آبی بر محتوی پروتئین گیاه افزود (Zareei Siahbidi and Rrezaizad, 2018).

در بین تیمارهای اثر متقابل کاربرد سوپرجاذب با کود زیستی، بالاترین محتوی پروتئین بذر به تیمار کاربرد سوپرجاذب همراه با تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و آزوسپریلیوم+ سیتروباکتر به ترتیب با متوسط ۷/۹۹ و ۷/۹۱ درصد اختصاص داشت، کمترین مقدار صفت مذکور برای تیمار عدم کاربرد سوپرجاذب و عدم تلقیح بذر با متوسط ۶/۳۲ درصد ثبت شد، در این بررسی کاربرد کود زیستی در هر دو تیمار کاربرد و عدم کاربرد سوپر جاذب، مقدار پروتئین بذر را افزایش داد. همان‌طوری که اشاره شد با تشدید تنش کم‌آبی بر درصد پروتئین دانه افزوده می‌شود، با تشدید تنش کم‌آبی، طول دوره رشد گیاه و طول دوره پر شدن گیاه هم کاهش نشان خواهد داد؛ با کاهش طول دوره رشد، فتوسنتز خالص گیاه و به‌تبع آن وزن دانه که عمدتاً به‌واسطه نشاسته است کاهش نشان خواهد داد و درنتیجه این فرآیند نسبت پروتئین به نشاسته در دانه افزایش خواهد یافت. محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2019) در تحقیقی بر روی عدس نشان دادند بالاترین درصد پروتئین در دانه عدس به تیمار تنش شدید کم‌آبی اختصاص داشت، همچنین در تحقیقی دیگر بر روی آفتابگردان محتوی پروتئین برگ تحت تأثیر تیمارهای تنش کم‌آبی و مصرف سوپر جاذب افزایش نشان داد (Zareei Siahbidi and Rrezaizad, 2018). در تحقیقی بر روی یونجه، خلیلی و حمزه (Khalili and Hamze, 2021) نشان دادند تنش کم‌آبی و کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپرجاذب به‌صورت معنی‌داری درصد پروتئین برگ را افزایش داد.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج تحقیق حاضر بهبود محیط رشد کرچک از طریق تیمارهای کود زیستی و سوپرجاذب اثر مثبتی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، پرولین، پروتئین‌های محلول برگ گذاشته و مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی (مالون‌دی‌آلدهید) را کاهش داده است، از مهم‌ترین واکنش‌های متابولیکی گیاهان تحت شرایط تنش کم‌آبی، افزایش سنتز پروتئین‌های محلول، تجمع اسیدآمینه‌هایی نظیر پرولین است که افزایش آن‌ها در گیاه می‌تواند از طریق تنظیم اسمزی موجب پایداری سلول‌ها و حفظ تورژسانس سلولی گردد. در بررسی حاضر به نظر می‌رسد تیمار کود زیستی و سوپرجاذب از طریق بهبود سطح تغذیه‌ای و تنظیم واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه، مقدار مقاومت گیاه به تنش کم‌آبی را بهبود بخشیده‌اند، بنابراین کاربرد جداگانه و همزمان کودهای بیولوژیک (به‌خصوص سیتروباکتر) و سوپر جاذب می‌تواند راهکاری برای بهبود خصوصیات فیزیولوژیک گیاه کرچک در کلیه سطوح آبیاری باشد.

منابع

Ahmadi, A., Siosemardeh, A., 2004. Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance, and non-stomatal limitations. International Journal of Agriculture & Biology .7(5), 807-811.

Amani, N., Sohrabi, Y., Heidari, G., 2017. Yield and some physiological characteristics in maize by application of bio and chemical fertilizers under drought levels. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 27, 65-83. [In Persian].

Amirusefi, M., Reza Tadayon, M., Ebrahimi, R., 2020. Investigation of biochemical reactions and antioxidant enzymes activity of Quinoa under drought stress and fertilizer treatments in saline soil. Journal of Crops Improvemen. 22, 629-644. https://doi.org/10.22059/jci.2020.293317.2305

Babaei, K., Seyed Sharifi, R., Pirzad, A. R., Khalilzadeh, R., 2107. Effects of bio fertilizer and nano Zn-Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. Journal of Plant Interaction. 12, 381-389. https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1371798

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-54. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F. W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A. M., Francia, E, Mare, C., Tondelliand, A., Stanca, M., 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. Field Crops Research. 105, 1-14. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.07.004

Chance, B., Maehley, A., 1955. Assay of catalases and peroxidase, Methods in Enzymology. 2, 764–775.

Comas, L.H., Becker, S.R., Cruz, V.M.V., Byrne, P.F., Dierig, D.A., 2013. Root traits contributing to plant productivity under drought. Frontiers in Plant Science. 4,1-6. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00442

Ebadi, N, Seyed Sharifi R, Sedghi M. Effect of Supplementary Irrigation and Bio fertilizers on Malondialdehyde and Anthocyanins Content and Chlorophyll Fluorescence Indices of Rainfed Barley. Crop Physiology Journal. 13, 45-69. [In Persian]. https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008403.1400.13.49.3.8

Ebrahimi Chamani, H., Fallah Amoli, H., Niknejad, Y., Barari Tari, D., 2022. Effects of zeolite and biofertilizers on yield components, yield and nutrients uptake in grains of two corn cultivars (cv. 6010 and ns71). Journal Of Plant Nutrition. 45, 1670–1681. https://doi.org/10.1080/01904167.2021.2014876

FAO. 2022. https://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development. 29, 185-212.

Fasusi, O. A., Cruz, C., Babalola, O. O., 2021. Agricultural sustainability: Microbial biofertilizers in rhizosphere management. Agriculture. 11, 163. https://doi.org/10.3390/agriculture11020163

Fazeli Rostampour, M., Yarnia, M., Rahimzadeh Khoee, F., 2013. Physiological response of forage sorghum to polymer under water deficit conditions. Agronomy Journal. 105, 951-959. https://doi.org/10.2134/agronj2012.0071

Ghafari, H., Tadayon, M.R., Nadeem, M., Cheema, M., Razmjoo, J., 2019. Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. Acta Physiologiae Plantarum. 41, 23-38. https://doi.org/10.1007/s11738-019-2815-z

Gholinezhad, E., Eivazi. A., 2019. The Effect of Super Absorbent Polymer and Manure Fertilizer on Water Use Efficiency of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars under Different Irrigation Regimes. Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture). 21, 275-288. [In Persian]. https://doi.org/10.22059/jci.2019.277417.2181

Hamurcu, M., Khan, M.K., Pandey, A., Ozdemir, C., Avsaroglu, Z.Z., Elbasan, F., Omay, A.H., Gezgin, S., 2020. Nitric oxide regulates

watermelon (*Citrullus lanatus*) responses to drought stress. Biotechnology. 10,1–14. https://doi.org/10.1007/s13205-020-02479-9

Hasanpour, O., Azizi, Kh., Feizian, M., Ismaeili4, A., 2020. Study the effect of phosphate Barvar-2 biofertilizer, iron nano-chelate and superabsorbent on qualitative and quantitative yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under dry farming conditions. Iranian Journal of Pulses Research. 11(2), 62-75. https://doi.org/10.22067/IJPR.V11I2.70978

Heath, R.L., Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125, 189-198

Iqbal, J., Zaib, S., Farooq, U., Khan, A., Bibi, I., Suleman, S., 2012. Antioxidant, antimicrobial and free radical scavenging potential of aerial parts of *Periploca aphylla* and R*icinus communis*. International Scholarly Research Notices. https://doi.org/10.5402/2012/563267

Islam, M., Xue, X., Mao, S., Ren, C., Eneji, A., Hu, Y., 2011a. Effects of water saving super-absorbent polymer on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in corn (*Zea mays* L.) under drought stress. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91, 813-819. https://doi.org/10.1002/jsfa.4234

Karimi, N., Mojaddam, N., Lack, S., Payandeh, K., Shokuhfar, A., 2021. The effect of superabsorbent and iron and zinc foliar application on antioxidant enzyme activity and yield maize (S.C.704) (*Zea mays* L.) under irrigation regimes. Environmental Stresses in Crop Sciences. 14, 387-402. [In Persian]. https://doi.org/10.22077/escs.2020.2589.1736

Khalili, M., Hamze, H., 2021. Investigating the effect of superabsorbent polymer application on agronomic properties and forage yield of alfalfa under different moisture conditions. Iranian Journal of Dryland Agriculture. 10, 41-71. [In Persian]. https://doi.org/0.22092/IDAJ.2021.342918.306

Khalili, M., Hamze, H., 2021. Effect of different soil amendment treatments on quantitative and qualitative characteristics of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under different irrigation regimes. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 31, 171-192. [In Persian]. https://doi.org/10.22034/SAPS.2021.12799

Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., 2016. Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of Triticale under water-limitation condition. Journal of Plant Interactions. 11, 167–177. https://doi.org/10.1080/17429145.2016.1262914

Kruk, J., Czytko, H.H., Oettmeier, W., Trebest, A., 2005. Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II. Journal of Plant Physiology. 162,749-757. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.020

Kumar, R., Kumawat, N., Sahu, Y. K., 2017. Role of biofertilizers in agriculture. Popular kheti, 5(4), 63-66.

Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. 1, F4.3.1-F4.3.8. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01

Liv, S.S., Dick, L.A., Marco, B., Magno, J.D., Cândido, G.C., William, C., Tan, D., Xiaohua, H.P., Lakshmamma, C., Lavanya-Olga, L.T.M., Thomas, M., Máira, M., Travis D,M., Stephen, A.M., Alejandro, A.N., Dartanhã, J.S., Valdinei, S., Ming, L.W., Maurício, D.Z., Helge, Z., 2012. A review on the challenges for increased production of castor. Agronomy Journal. 104(4), 853-880. https://doi.org/10.2134/agronj2011.0210.

Mahmoudi, A., Afkari, A., 2020. Physiological traits of wheat in drought stress conditions. Scientific Journal of Crop Physiology. 12, 131-147. [In Persian]. https://doi.org/10.4236/as.2015.68082

Mohammadi, M., Ghane, M., Majnoun Hoseini, N., Moghaddam, H., 2019. Response of lentil (*Lens culinaris* L.) yield and physiological traits to chemical and bio -phosphorus fertilizers under different irrigation regimes. Journal of Agroecology. 10, 1107-1120.

Mortazavy, S. M., Tavakoli, A., Mohammadi, M. H., Afsahi, K., 2016. Effect of superabsorbent on physiological traits and yield of wheat Azar2 cultivar under dry farming condition. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi). 106, 118-125. [In Persian]. https://doi.org/10.22092/AJ.2015.105731

Naeem, M., Naeem, M.S., Ahmad, R., Ahmad, R., Ashraf, M.Y., Ihsan, M.Z., Nawaz, F., Athar H.U.R.R., Ashraf. M., Abbas, H.T.,

Abdullah, M., 2018. Improving drought tolerance in maize by foliar application of boron: water status, antioxidative defense and photosynthetic capacity. Archives of Agronomy and Soil Science. 64, 626-639. https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1370541

Osati, F., Mir Mahmoodi,T., Paseban Eslam, B., Yazdan Seta, S., Monirifar, H., 2019. Effect of irrigation levels and spraying of chemical fertilizers on some physiological traits and grain yield in castor (*Ricinus communis* L.). Environmental Stresses in Crop Sciences, 12, 747-762. [In Persian]. https://doi.org/10.22077/escs.2019.1452.1320

Rahbari, A., Sinaki, J.M., Damavandi, A., Rezvan, S., 2021. Castor bean (*Ricinus communis* L.) responses to drought stress and foliar application of Zn-nano fertilizer and humic acid: grain yield, oilcontent, antioxidant activity, and photosynthetic pigments. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 49,12003-12018. https://doi.org/10.15835/nbha49412003

Rahimi, A., Dovlati, B., Amirnia, R., Heydarzade, S., 2020. Effect of application of mycorrhizal fungus and Azotobacter on physiological characteristics of *Trigonella foenum-graecum* L. under water stress conditions. Iranian Journal of Plant Biology. 11, 12-23. https://doi.org/10.22108/IJPB.2019.116384.1149

Razban, M., Pirzad, A. R., 2012. Evaluate the effect of varying amounts of super absorbent under different irrigation regimes on growth and water deficit tolerance of German chamomile (*Matricaria chamomilla*), as a second crop. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 21, 123-137.

Sadeghi-Bakhtavari, A.R., Hazrati, S., 2018. Growth, yield, and fatty acids as affected by water-deficit and foliar application of nitrogen, phosphorus, and sulfur in castor bean. Journal Of Crop Improvement. 35, 453-468. https://doi.org/10.1080/15427528.2020.1824953

Saidi, M., Safari-Nia, H., Ghanbari, F., Sayaari, M., 2014. Evaluation of Physiological Indices of Tomato (*Solanum lycopersicum*) Plant Under Different Irrigation Intervals and Superabsorbent Polymer A200. Journal of Crop production and processing. 12, 335-347. https://dorl.net/dor/20.1001.1.22518517.1393.4.12.28.4

Salehi, A., Ghalavand, A., Sefidkon, F., Asgharzade, A., Saeedi, K., 2016. Effects of zeolite, bio and organic fertilizers application on the growth, yield and yield components of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in organic cultivation. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 32, 2. 203-215. [In Persian]. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106556

Seyed Sharifi, R., Seyed sharifi, R., 2019. Effects of bio fertilizers application on yield, oil content and antioxidant enzymes activity of sunflower (*Helianthus annus* L.) in different irrigation withholding levels. Journal of Plant Process and Function. 8, 97-107. https://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1398.8.29.9.1

Singh-Gill, S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance incrop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48, 909- 930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Soheilnejad, A., Mahdavi Damghani, A., Liaghati, S., Pezeshkpour, P., 2018. Effect of superabsorbent hydrogel Aquasorb application on mitigating drought stress, grain yield and water use efficiency of mung bean (*Vigna radiate* L.). Iranian Journal of Crop Sciences. 19, 363 -375. [In Persian]. https://dorl.net/dor/20.1001.1.15625540.1396.19.4.6.8

Stamenkovic, C., Beskoski, V., Karabegovic, I., Lazic, M., Nikolic, N., 2018. Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives. Spanish Journal of Agricultural Research. 16, 210- 228. https://doi.org/10.5424/sjar/2018161-12117

Tohidi-Moghadam, H.R., Shirani Radi, A.H., Nour-Mohammadi, G., Habibi, D., Modarres-Sanavy, S.A.M., Mashhadi-Akbar–Boojar, M., Dolatabadian, A., 2009. Response of six oil seed rape genotypes to water stress and hydrogel application. Pesquisa Agropecuaria Tropical. 39, 243-250.

Valipour, H., Shafagh-Kolvanagh, J., Ghassemi Golezani, K., Alizadeh-Salteh, S., 2021. mprovement of yield-related traits of spring rapeseed in response to nano-superabsorbent and bio-fertilizers under water deficit conditions. Journal of Plant Physiology and Breeding. 11, 15-32.

Verma, K.K., Singh, M., Gupta, R.K., Verma, C.L., 2014. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence,antioxidant enzymes, and growth responses of Jatropha curcasduring soil flooding. Turkish Journal of Botany. 38,130-140. https://doi.org/10.3906/bot-1212-32

Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil 255, 571-586.

Yaghini, F., Seyed Sharifi, R., Narimani, H., 2020. Effects of supplemental irrigation and biofertilizers on yield, chlorophyll content, rate and period of grain filling of rainfed wheat. Iranian Journal of Field Crops Research. 18, 101-109. [In Persian]. https://doi.org/10.22067/GSC.V18I1.81264

Zareei Siahbidi, A., Rrezaizad, A., 2018. Effect of deficit irrigation and super absorbent application on physiological characteristics and seed yield of new Iranian sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. Iranian Journal of Crop Sciences. 20(3), 222-236. [In Persian]. https://dorl.net/dor/20.1001.1.15625540.1397.20.3.4.1

Zhang, X., Zhang, F., Li, Z., Yang, Z., Hao, L., Zhao, H., 2020. Comparative transcriptome analysis of Cynanchum thesioides under drought stress reveals candidate genes involved in succinic acid biosynthesis. Journal of Plant Biology. https://doi.org/10.1007/s12374-021-09301-w

Zimmerman, J. D., 2002. Irrigation, John Wiley & Sons Inc. New York.