University of Birjand

Environmental Stresses in Crop Sciences

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

https://doi.org/10.22077/escs.2026.9873.2385

Original article

Effects of irrigation intervals and biological and chemical fertilizers on the physiological and biochemical characteristics of cowpea (*Vigna unguiculata* L.)

Betool Mohammadkarimi[1], Yaser Alizadeh[2*], Rahim Naseri[2], Fereshteh Darabi[3]

1. *M.Sc. student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran*
2. *Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran*
3. *Ph.D. Graduate of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran*

Received 2 August 2025; Revised 2 September 2025; Accepted 7 September 2025

Extended abstract

Introduction

Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) is an important legume crop in tropical and subtropical regions because of its high nutritional value and good adaptability to environmental conditions. It also plays an important role in sustainable crop production. However, water scarcity is a major limiting factor affecting cowpea growth and yield, as it can reduce production by decreasing photosynthesis and altering physiological and biochemical processes. Appropriate irrigation management and the use of efficient nutrient sources, particularly biofertilizers, can improve plant growth and enhance drought tolerance. Therefore, this study investigated the effects of different irrigation intervals and fertilizer treatments, including biofertilizers and chemical fertilizers, on the physiological and biochemical traits, grain yield, and yield-related traits of cowpea.

Materials and methods

A field experiment was conducted to investigate the effects of different irrigation intervals and fertilizer treatments, including organic and chemical fertilizers, on the physiological, biochemical, and yield-related traits of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). The experiment was arranged in a split-plot design within a randomized complete block design, with three replications. The experiment comprised three irrigation intervals as the main-plot factor (7, 9, and 12 days) and five fertilizer treatments as the subplot factor (control, Barvar-2 phosphate biofertilizer, Peta Barvar biofertilizer, phosphorus fertilizer, and potassium fertilizer). Seeds of a local cowpea cultivar were sown on May 12 at a row spacing of 30 cm and a planting density of 20 plants m^{-2}. Irrigation was initiated at sowing, and the assigned irrigation intervals were applied from the five-leaf stage onward. After surface sterilization with sodium hypochlorite, the seeds were pretreated with the respective phosphorus- and potassium-solubilizing biofertilizers for 4 h, using gum arabic as an adhesive agent, and subsequently air-dried under laboratory conditions. At the flowering stage, young, fully expanded leaves were sampled from each treatment to evaluate physiological traits. Physiological and biochemical traits, including chlorophyll a and b contents, carotenoid content, leaf area, total leaf protein, proline, anthocyanin, and antioxidant enzyme activity, were measured, along with grain yield. Analysis of variance and statistical calculations were performed using SAS software, version 9.1, and treatment means were compared using the least significant difference (LSD) test at the 5% significance level.

* Corresponding author: Yaser Alizadeh; E-Mail: y.alizadeh@ilam.ac.ir

© 2027, 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).

Results and discussion

The results showed that increasing irrigation intervals significantly reduced chlorophyll a and b contents, leaf area, and total leaf protein content, whereas carotenoid content and antioxidant enzyme activity exhibited an increasing trend. Among the fertilizer treatments, Barvar-2 phosphate biofertilizer was associated with higher chlorophyll content and leaf area, whereas Peta Barvar biofertilizer showed a positive association with total leaf protein content. However, the differences between these treatments and the other fertilizer treatments were not statistically significant. The interaction between irrigation interval and fertilizer source significantly affected biochemical stress indicators, including proline and anthocyanin. The highest proline and anthocyanin contents were observed under the 12-day irrigation interval combined with potassium fertilizer application, suggesting that these compounds may contribute to osmotic regulation and enhance plant resistance under water-deficit conditions, whereas the lowest values were recorded in the unfertilized control treatment. Furthermore, grain yield decreased as the irrigation interval increased. The highest grain yield (1,434.95 kg ha^{-1}) was obtained with the 7-day irrigation interval combined with Barvar-2 phosphate biofertilizer, whereas the lowest yield (320 kg ha^{-1}) was recorded with the 12-day irrigation interval and no fertilizer application. Overall, the application of Barvar-2 phosphate biofertilizer improved some physiological indicators and alleviated the adverse effects of water deficit, thereby contributing to the maintenance of grain yield under water-limited conditions.

Conclusion

These findings indicate that integrated water and nutrient management strategies can play an important role in promoting sustainable agriculture in water-limited regions by improving plant resistance to drought stress and enhancing crop production efficiency. Therefore, combining appropriate irrigation management with suitable plant nutrition practices can be an effective approach to mitigating water resource limitations and improving the sustainability of crop production while enhancing plant growth and yield.

Keywords: Anthocyanin, Antioxidant enzymes, Irrigation intervals, Fertilizer management

نسخه پیش از انتشار

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

https://doi.org/10.22077/escs.2026.9873.2385

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر فواصل آبیاری و استفاده از کودهای زیستی و شیمیایی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.)

بتول محمدکریمی[1]، یاسر علیزاده[2*]، رحیم ناصری[2]، فرشته دارابی[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
۲. استادیار ، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام ، ایلام، ایران
۳. دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
آنتوسانین
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
فواصل آبیاری
مدیریت کود

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۲
تاریخ بازنگری:۱۴۰۴/۰۶/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶

چکیده

لوبیا چشم بلبلی یکی از حبوبات مهم در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است که تحت تأثیر عوامل مختلف زراعی مانند مدیریت آبیاری و تغذیه قرار دارد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر فواصل مختلف آبیاری و منابع کودی (زیستی و شیمیایی) بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چشم بلبلی طراحی و اجرا شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح دور آبیاری (۷، ۹ و ۱۲ روز) و پنج سطح منابع کودی (عدم مصرف کود، فسفات بارور ۲، پتا بارور، کود فسفر و کود پتاسیم) بودند. نتایج نشان داد با افزایش فاصله آبیاری، میزان کلروفیل a و b، سطح برگ و پروتئین کل برگ کاهش معنی‌داری داشت، در حالی‌که میزان کارتنوئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. استفاده از فسفات بارور ۲ موجب افزایش کلروفیل‌ها و سطح برگ شد و پتابارور تأثیر مثبتی بر افزایش پروتئین کل برگ داشت، اگرچه این تفاوت‌ها از نظر آماری با سایر تیمارهای کودی معنی‌دار نبودند. اثر متقابل آبیاری و کود نشان داد که بیشترین مقادیر پرولین و آنتوسیانین، به‌عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی مقاومت، در دور آبیاری ۱۲ روز همراه با مصرف کود پتاسیم مشاهده شد، در حالی‌که کمترین مقدار آن‌ها مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین عملکرد دانه (۱۴۳۴/۹۵ کیلوگرم در هکتار) در دور آبیاری ۷ روز همراه با فسفات بارور ۲ و کمترین عملکرد (۳۲۰ کیلوگرم در هکتار) در دور آبیاری ۱۲ روز بدون مصرف کود به دست آمد. در شرایط بروز تنش خشکی جهت آبیاری لوبیاچشم بلبلی استفاده از دورآبیاری ۱۲ روزه همراه با کود فسفات بارور ۲ به منظور افزایش تحمل گیاه لوبیاچشم‌بلبلی به تنش خشکی قابل توصیه است.

مقدمه

لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.)، گیاهی یک‌ساله از خانواده لگومینوز است که در مناطق نیمه‌خشک و خشک کشت می‌شود، این گیاه به‌دلیل غنای تغذیه‌ای، به‌ویژه پروتئین و کربوهیدرات‌ها، در کشورهای در حال توسعه اهمیت زیادی دارد (Ji et al., 2019). دانه‌های آن منابع مهمی از پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند و برای جوامع فقیر که به منابع پروتئینی ارزان نیاز دارند، کاربرد زیادی دارند (Belay et al., .2017). همچنین، برگ‌های آن به‌عنوان سبزی خوراکی و غلاف‌های سبز نارس مشابه با لوبیا سبز مصرف می‌شوند (Gupta et al., 2016)، و به‌عنوان علوفه برای دام‌ها نیز ارزش غذایی بالایی دارد (Sayeed et al., 2017).

یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های محیطی که بر بسیاری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی، مولکولی و سلولی گیاه تأثیر می‌گذارد، تنش خشکی است، قرار گرفتن گیاهان در معرض این تنش باعث ایجاد انواع اختلالات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌شود (Parmoon et al., 2019). میزان رطوبت خاک نقش حیاتی در تعیین ویژگی‌های فیزیولوژیکی

* نگارنده پاسخگو: یاسر علیزاده. پست الکترونیک: y.alizadeh@ilam.ac.ir

گیاهان، از جمله لوبیا چشم‌بلبلی دارد (Mageed et al., 2023). تنش آبی می‌تواند منجر به کاهش مؤلفه‌های اصلی فتوسنتز، کاهش میزان کلروفیل برگ‌ها و افزایش تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی شود و این تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی به‌طور غیرمستقیم بر فرآیندهای رشدی و تولیدمثل گیاه تأثیر منفی می‌گذارند (Chaves et al., 2009; Mageed et al., 2023) . نتایج مطالعات اخیر نشان می‌دهد که تنش خشکی منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی و کاهش عملکرد گیاه می‌شود، به‌ویژه در گونه‌های حساس مانند لوبیا چشم‌بلبلی (Wu et al., 2022) . در این راستا، مدیریت منابع آب از جمله استفاده بهینه از فواصل آبیاری به‌طور ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک، یکی از عوامل مؤثر در بهبود رشد و عملکرد گیاهان است.

استفاده از کودهای شیمیایی و زیستی نیز به‌عنوان یکی از استراتژی‌های مؤثر در بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش آبی شناخته شده است، کودهای زیستی به‌ویژه باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و کودهای فسفاته مانند سوپر فسفات تریپل، علاوه بر تأمین مواد مغذی ضروری، می‌توانند به بهبود عملکرد گیاهان در شرایط کم‌آبی و تنش خشکی کمک کنند (Tariq et al., 2017; Wu et al., 2005). در مطالعه‌ای نشان داده شد که استفاده از کودهای زیستی بارور۲ باعث بهبود عملکرد گیاهان تحت شرایط کم‌آبی و افزایش کارایی فتوسنتزی آن‌ها شده است (Hassanpour et al., 2020). از سوی دیگر، استفاده از استراتژی‌های مدیریت یکپارچه مواد مغذی (INM) می‌تواند به بهبود پایداری کشاورزی در مناطق با کمبود منابع طبیعی کمک کند (Kiran et al., 2020).

با توجه به این که ایران با اقلیمی خشک و نیمه‌خشک مواجه است و گیاهان به‌ویژه در این مناطق تحت تأثیر شدید تنش خشکی قرار می‌گیرند، بنابراین استفاده از موادی که بتواند اثرات مضر تنش را در گیاهان کاهش دهد و هم چنین دارای سازگاری با محیط زیست باشد، بسیار ضروری می‌باشد. بر همین اساس پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات ترکیبی فواصل آبیاری و کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی در گیاه لوبیا چشم‌بلبلی، از جنبه پاسخ فیزیولوژیک و بیوشیمیایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایش اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ای واقع در شهر ایوان در ۳۵ کیلومتری شمال غربی شهر ایلام در ۳۳ درجه و ۵۰ دقیقه عرض شمالی و ۴۶ درجه و ۲۰ دقیقه طول جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا ۱۲۰۰ متر در سال زراعی ۱۴۰۳-۱۴۰۲ اجرا شد. جهت بررسی بافت خاک و عناصرغذایی موجود در آن، نمونه‌ای مرکب از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک مزرعه تهیه و به آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام فرستاده شد. نتایج ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح دور آبیاری (۷، ۹ و ۱۲ روز) به عنوان عامل اصلی و عامل فرعی شامل پنج منبع کودی (شاهد، فسفات بارور ۲، پتا بارور، کود فسفر و کود پتاسیم) بود.

عملیات خاکورزی با دو دیسک در تاریخ ۱۵ اردیبهشت و بعد از آن کرت‌بندی در ابعاد ۴/۵ × ۱/۵ متر انجام شد. بذور رقم محلی لوبیاچشم‌بلبلی به صورت دستی در تاریخ ۲۲ اردیبهشت با فاصله کشت ۳۰ سانتی‌متر در هر ردیف و تراکم بوته ۲۰ بوته در هر مترمربع کاشته شدند. آبیاری از زمان کاشت شروع و پس از ۵ برگی لوبیاچشم‌بلبلی به صورت اعمال تیمارها انجام شد. از کود زیستی فسفاته بارور-۲، تولید شده توسط شرکت زیست فناور سبز، که شامل دو سویه باکتری‌های حل‌کننده فسفات از جنس پنتاآگلومرانس سویه P5 و سودوموناس پوتیدا سویه P13 با 10^8باکتری زنده و فعال در هر گرم است، استفاده شد. همچنین، کود زیستی پتا بارور که دارای دو نوع باکتری حل‌کننده پتاسیم، سودوموناس کُره‌ای و سودوموناس ونکوِوری است، به میزان ۷۰ گرم در هر کرت برای بذرمال کردن بذور به کار رفت. ابتدا بذرها درهیپوکلریت سدیم ۰/۰۵ ضدعفونی سطحی شدند سپس بذرها با آب مقطر شسته شده و با استفاده از کاغذ صافی استریل آبکشی شدند تا آب سطحی آن‌ها خارج شود (Ceritoglu et al., 2023). در ادامه بذرهای لوبیا چشم بلبلی به مدت ۴ ساعت (Saber et al., 2021) در تیمارهای مختلف کودی غوطه‌ور شدند و در شیکر قرار گرفتند. به جهت اینکه پیش تیماربذر بهتر انجام گیرد، از صمغ عربی در این آزمایش استفاده شد (Seyed Sharif, and Seyed Sharifi, 2020). بذرهای پیش تیمار شده تا رسیدن به

رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه به مدت ۱ ساعت خشک شدند (Saber et al., 2021). برای اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیولوژیکی در مرحله گلدهی، از هر کدام از تیمارهای آزمایش از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته نمونه‌برداری انجام شد.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری

Table 1- Physical and chemical characteristics of the soil in 0-30 cm depth

بافت خاک Soil texture	فسفر Available P	پتاسیم Available K	نیتروژن Available N	کربن آلی Organic Carbon	شوری E.C	اسیدیته pH
	ppm			%	dS m^{-1}	
loam Clay	8.30	370.3	0.125	1.2	0.15	7.06

رنگیزه های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید، از روش آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد بدین صورت که ابتدا حدود ۰/۵ گرم برگ تازه وزن شد و در هاون چینی به‌خوبی له گردید. سپس به نمونه ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد افزوده شد. محلول حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از جداسازی، جذب محلول شفاف به‌دست‌آمده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل SPECORD، ساخت کشور Analytik jena، کشور آلمان)، اندازه‌گیری شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های استاندارد آرنون، مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید.

$$Chlorophyll\ a = (19.3 * A663 - 0.86 * A645)\ V/100W \quad [۱]$$

$$Chlorophyll\ b = (19.3 * A645 - 3.6 * A663)\ V/100W \quad [۲]$$

$$Carotenoides = 100(A470) - 3.27_{(mg\ chl.a)} - 104_{(mg\ chl.b)}/227 \quad [۳]$$

در معادلات فوق، V: حجم محلول صاف شده (محلول‌رویی حاصل از سانتریفیوژ)، A: جذب نور در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر، W: وزن تر نمونه بر حسب گرم هستند.

پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)، استفاده شد، ابتدا نیم گرم بافت تازه برگ در هاون چینی کوبیده و به داخل لوله آزمایش منتقل شد. سپس به آن ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی، ۲ میلی‌لیتر در لوله آزمایش جدید ریخته شد و به آن ۲ میلی‌لیتراسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. محلول به خوبی مخلوط شده و به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از آن لوله‌ها بر روی یخ سرد شدند. سپس به هر نمونه ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به مدت ۲۰ ثانیه در دستگاه ورتکس هم زده شد. فاز تولوئن جدا شده و جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد، محلول‌های استاندارد پرولین با غلظت‌های صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و مشابه نمونه‌ها با معرف‌ها تیمار شدند. در نهایت، با استفاده از منحنی استاندارد و قرار دادن مقادیر جذب نمونه‌ها در معادله خطی (۴) رسم‌شده، مقدار پرولین در نمونه‌ها بر حسب میکرومول در گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$Y = 0.2125X - 0.1911;\ (R^2 = 0.9282) \quad [۴]$$

پروتئین برگ

پروتئین برگ طبق روش برادفورد (Bradford, 1979) اندازه گیری شد، بدین صورت که برای تهیه معرف برادفورد، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو[1] (G-250) در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر

[1] Coomassie Brilliant Blue

نسخه پیش از انتشار

اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن افزوده و حجم نهایی محلول با آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. محلول تهیه‌شده پس از صاف‌کردن با کاغذ واتمن شماره ۱ به‌عنوان معرف برادفورد مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش پروتئین، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی با ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در یخچال نگهداری گردید. همزمان، استانداردهایی از آلبومین سرم گاوی[1] (BSA) در غلظت‌های مختلف تهیه شد. سپس جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. محلول برادفورد به‌عنوان شاهد (Blank)استفاده شد. در نهایت، مقادیر جذب نمونه‌ها در معادله خط حاصل از منحنی استاندارد قرار داده شده و غلظت پروتئین محلول کل برگ بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

آنتوسیانین

برای تعیین آنتوسیانین از روش اختلاف جذب در pHهای مختلف بر اساس روش جیوستی و ورولستاد (Giusti and Wrolstad, 2001) استفاده شد. استخراج با متانول اسیدی (۹۹٪ متانول + ۱٪ HCl) از ۲ گرم بافت منجمد انجام گرفت. پس از ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سانتریفیوژ (مدل ۳۰۰ Z، شرکت HERMLE، آلمان) (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۵ دقیقه)، جذب نمونه‌ها در ۵۳۰ و ۷۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Instrument Ltd T80+UV/VIS PG) اندازه‌گیری شد و غلظت نهایی آنتوسیانین با معادله‌های ۵ و ۶ محاسبه گردید.

A= (A530-A700)PH1-(A530-A700)PH4 [۵]

آنتوسیانین کل (میلی‌گرم در لیتر) =

(A×34300×6.6×1000)/449.2×1 [۶]

۳۴۰۰ نشان دهنده ضریب خاموشی سیانیدین ۳- گلوکوزاید، ۶/۶ فاکتور رفت، ۱۰۰۰ ضریب تبدیل و ۴۴۹/۲ وزن مولکولی سیانیدین ۳- گلوکوزاید می‌باشد.

فعالیت آنزیمی

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به روش آبی (Aebi,1984) و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل SPECORD50-UV-Visible ساخت شرکت Analytik Jena کشور آلمان) در طول موج ۲۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل شامل فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب طی ۵ دقیقه با فواصل ۲۰ ثانیه‌ای ثبت و فعالیت آنزیم محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) بر اساس روش رانیری و همکاران (Ranieri et al., 2003) اندازه‌گیری شد. در این روش، تجزیه آسکوربیک اسید در حضور H_2O_2 منجر به تشکیل دهیدروآسکوربات شده و کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر ثبت گردید. محیط واکنش بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار سرد (pH=7)، اسکوربات ۰/۵ میلی-مولار، H_2O_2 ۱۵میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب طی ۲ دقیقه با فواصل ۲۰ ثانیه‌ای اندازه‌گیری شد.

سطح برگ با استفاده از دستگاه مساحت سنج دیجیتال (مدل CL-203 CA Conveyor Attachment ساخت آمریکا) استفاده شد. عملکرد دانه در پایان دوره رشد با جمع‌آوری دانه‌های حاصل از ده بوته به‌طور تصادفی از هر کرت و پس از حذف اثرات حاشیه‌ای محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده نرم‌افزار آماری نرم‌افزار SAS 9.1 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2019 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد محاسبه شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفت کلروفیل a نشان داد اثرات اصلی دور آبیاری و منبع کود در سطح احتمال آماری یک درصد اثر معنی‌داری بر این صفت داشت، ولی اثرات برهمکنش دوگانه دور آبیاری × منبع کود بر این صفت تأثیرگذار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش دور آبیاری میزان کلروفیل a کاهش معنی‌داری داشت که بیانگر وضعیت مطلوب بدون تنش آبی است. دور آبیاری ۱۲ روز، سبب کاهش ۵۸/۶۰ درصدی میزان کلروفیل a نسبت به دور آبیاری ۷ روز بود (جدول ۳). احتمالاً کاهش میزان کلروفیل در تیمار آبیاری با فاصله ۱۲روزه حاکی از اثر

[1] - Bovine Serum Albumin

نسخه پیش از انتشار

منفی تنش آبی بر فرآیندهای فتوسنتزی است. بر اساس مطالعات پیشین، کمبود آب می‌تواند از طریق کاهش تولید ATP[1] و NADPH[2] فعالیت فتوسنتزی را مختل کرده و در نهایت منجر به کاهش سنتز کلروفیل شود (Chaves et al., 2009). همچنین، کاهش عملکرد آنزیم‌های فتوسنتزی و تخریب ساختار غشای سلولی در اثر تولید رادیکال‌های آزاد از دیگر عوامل کاهش کلروفیل محسوب می‌شود (Shao et al., 2008) کاهش کلروفیل a طی تنش خشکی در لوبیا نیز گزارش شده است (Sadat Rasti Sani et al., 2014). یافته‌های ما با نتایج مجید و همکاران (Mageed et al., 2023)هم‌راستا است که تنش آبی را عاملی مؤثر در کاهش شاخص کلروفیل گزارش کرده‌اند. در مقابل، تیمار آبیاری با فاصله ۷ روزه که شرایط مطلوبی را فراهم می‌کند، منجر به بیشترین مقدار کلروفیل a شد که نشان‌دهنده افزایش ظرفیت فتوسنتزی در این شرایط است. همان‌طور که مونس و تستر (Munns and Tester, 2008) نیز اشاره کرده‌اند، دسترسی مناسب به آب باعث حفظ سطح کلروفیل و کارایی فتوسنتزی می‌شود.

بر اساس جدول ۴، بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار کود فسفات بارور۲ به‌دست آمد، که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای کودی نداشت. در حالی‌که کمترین میزان کلروفیل aدر شرایط عدم استفاده از کود (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴). در زمینه کوددهی، استفاده از فسفات بارور ۲ اثرات مثبتی در افزایش کلروفیل a داشت. این یافته مؤید نقش کلیدی فسفر در فرآیندهای متابولیکی و فتوسنتزی گیاه است، زیرا فسفر در ساختار ATP و NADPH نقش دارد (Lambers, 2022). نتایج ما با یافته‌های طارق و همکاران (Tariq et al., 2017) درخصوص تأثیر مثبت کودهای فسفاته در بهبود فتوسنتز گیاهان تحت تنش آبی مطابقت دارد. همچنین، نتایج آزمایشی نشان داد که در شرایط کم‌آبی، مصرف کود شیمیایی فسفر به همراه کود زیستی فسفاته بارور۲ موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل گردید (Heshmati et al., 2016). افزون بر این، پژوهش‌های پیشین نیز تاکید کرده‌اند که کاربرد همزمان کود فسفره شیمیایی و تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات بارور۲ با افزایش کارایی جذب فسفر و تحریک متابولیت‌های محرک رشد، توانایی گیاه در سازگاری با تنش خشکی را بهبود می‌بخشد (Hun and Lee, 2005 ; Heshmati et al., 2016).

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت دور آبیاری و منابع کودی لوبیا چشم بلبلی

Table 2. Anallysise of variance (Ms) of physiological and biochemical traits under irrigation duration and fertilizer source of cowpea

منابع تغییرات S. O. V	درجه آزادی (df)	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	پرولین Proline	پروتئین برگ Leaf Protein
تکرار Replication	2	0.03 ^{ns}	0.03^{ns}	0.0008 ^{ns}	1.35 ^{ns}	0.004 ^{ns}
دور آبیاری Irrigation duration	2	18.95**	18.95**	0.38**	1145.35**	0.004*
خطای اصلی Sub-plot Error	4	0.11	0.11	0.001	1.45	0.00008
منبع کودی Fertilizer Source	4	0.28**	0.28*	0.0005^{ns}	105.18**	0.018**
دور آبیاری× منبع کودی Irrigation × Fertilizer	8	0.09^{ns}	0.09 ^{ns}	0.0006^{ns}	39.52**	0.001 ^{ns}
خطای فرعی Main Error	24	0.10	0.10	0.001	1.89	0.001
ضریب تغییرات C V (%)		*11.17*	*14.97*	*3*	*9.76*	*5.17*

[1] Adenosine Triphosphate

[2] Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

نسخه پیش از انتشار

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

منابع تغییرات S. O. V	درجه آزادی (df)	آسکوربات Ascorbate	کاتالاز Catalase	سطح برگ Leaf Area	آنتوسیانین Anthocyanin	عملکرد دانه Grain Yield
تکرار Replication	2	0.0004 ns	0.0008 ns	21.38 ns	0.0008 ns	1521.87 ns
دور آبیاری Irrigation duration	2	0.03**	0.001**	96.70**	0.13**	1916157.41**
خطای اصلی Sub-plot Error	4	0.001	0.00004	4.91	0.001	3154.38
منبع کودی Fertilizer Source	4	0.001 ns	0.00001 ns	29.10**	0.03**	539586.48**
دور آبیاری× منبع کودی Irrigation × Fertilizer	8	0.0008 ns	0.00002 ns	9.13 ns	0.003**	59207.45**
خطای فرعی Main Error	24	0.0006	0.00002	5.22	0.0009	4451.20
ضریب تغییرات C V (%)		34.32	40.41	39.03	22.70	7.07

ns ، ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ و۵ درصد

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

کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس صفت کلروفیل b نشان داد که تنها اثرات اصلی دور آبیاری در سطح احتمال یک درصد و منبع کودی در سطح احتمال ۵ درصد بر محتوای کلروفیل b اثر معنی‌دار داشتند (جدول ۲). با فزایش دور آبیاری میزان کلروفیل b ۶۸/۵۹ درصد کاهش یافت (جدول ۳). احتمالاً تنش خشکی از طریق تولید رادیکال‌های آزاد منجر پراکسیداسیون و در نهایت کاهش و تجزیه کلروفیل می‌گردد. تنش خشکی باعث افزایش رادیکال‌های آزاد سوپراکسید، پراکسیدهیدروژون و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌گردد که این رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث تخریب غشاها، کلروپلاست‌ها و پراکسیداسیون لیپیدی غشایی، تولید مالوندی‌آلدئید، تخریب پروتئین‌های و اسید نوکلئیک و مرگ سلول می‌شود (Hou et al., 2021). همچنین این کاهش، به محدود شدن جذب نور و افت بازده فتوسنتزی منجر شده که در نهایت بر رشد و تولیدمثل گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Chaves et al., 2009). با افزایش فاصله آبیاری از ۷ به ۱۴ روز محتوای کلروفیلb سیب‌زمینی کاهش یافت (Ghazizadeh et al., 2023). همچنین شکوه فر و ابوفتیله نژاد (Shokouhfar and Abofatilehnezhad, 2013) و حیدری و همکاران (Heidari et al., 2019) گزارش کردند که تنش رطوبتی باعث کاهش کلروفیل b ارقام ماش و باقلا می‌شود. کاهش کلروفیل b در تیمار آبیاری با فاصله ۱۲ روز نیز نشان‌دهنده کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی بود، که با یافته‌های وُو و همکاران (Wu et al., 2022) و مجید و همکاران (Mageed et al., 2023) همخوانی دارد.

همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود بیشترین مقدار کلروفیل b از تیمار مصرفی کود زیستی فسفات بارور ۲ حاصل گردید که نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف کود) ۱۸/۱۸ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). به نظر می‌رسد با کاربرد کود فسفات بارور۲، میزان جذب نیتروژن توسط گیاه افزایش یافته و نیتروژن، میزان صفت مزبور نیز بهبود یافته است. به‌علت ارتباط مستقیم کلروفیل با غلظت ازآنجاکه نیترژون نقشی اساسی در ساختار و ساختمان رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل دارد، بدیهی است که با افزایش میزان نیتروژن، میزان این رنگیزه‌ها افزایش یابند (Zubillaga et al., 2006). همچنین فسفات بارور ۲ حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات است که با افزایش دسترسی گیاه به فسفر، اثرات مثبتی بر فتوسنتز دارد (Tohidinia et al., 2013). حسن‌پور و همکاران (Hassanpour et al., 2020) نیز به تأثیر مثبت این کود بر رشد و کارایی فتوسنتزی گیاه نخود اشاره کرده‌اند. در مقابل، عدم استفاده از کود (شاهد) منجر به کاهش کلروفیل b شد که احتمالاً به دلیل کمبود فسفر و عناصر ضروری برای فتوسنتز است (Marschner, 2011).

نسخه پیش از انتشار

کارتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثر ساده دور آبیاری بر میزان کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان کاروتنوئیدها با افزایش شدت تنش افزایش یافت و بالاترین مقدار آن به دور آبیاری ۱۲ روز اختصاص داشت که در مقایسه با دور آبیاری ۷ روز ۲۱/۶ درصدی افزایش داشت (جدول ۳). گیاهان قادرند با تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر کاروتنوئیدها از ساختارهای سلولی خود در برابر رادیکال‌های فعال تولید شده در شرایط تنش محافظت کنند (Bettaieb et al., 2011). افزایش میزان کاروتنوئید در این شرایط می‌تواند ناشی از نقش حفاظتی این رنگیزه‌ها باشد. کاروتنوئیدها همچنین نور جذب‌شده را به کلروفیل‌ها منتقل کرده و باعث افزایش کارایی کلروفیل‌ها می‌گردند (Emadi et al., 2012). کاروتنوئیدها ممکن است نقش ویژه‌ای در تحمل به اثرات زیان‌بار تنش خشکی به وسیله حفظ فعالیت‌های فتوسنتزی ضروری برای رشد گیاه ایفا کنند (Abid et al., 2018). افزایش میزان کاروتنوئید برگ در گیاه ماش (Barjas et al., 2022)، نخود فرنگی (Yadollahi et al., 2023)، لوبیاقرمز (Tanhaie et al., 2023) تحت تنش خشکی گزارش شده که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

پروتئین کل برگ

نتایج تجزیه واریانس بیانگر این بود که اثر سطوح مختلف دور آبیاری در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) و منبع کودی تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) بر میزان پروتئین برگ لوبیاچشم‌بلبلی داشته‌اند (جدول ۲). با افزایش دور آبیاری از ۷ به ۱۲ روز میزان پروتئین کل برگ ۵/۷۹ درصد کاهش نشان داد (جدول ۳). کاهش پروتئین برگ در شرایط تنش آبی احتمالاً ناشی از کاهش جذب نیتروژن، اختلال در مسیرهای بیوسنتز پروتئین و افزایش تجزیه ترکیبات نیتروژنه باشد (Munns and Tester, 2008). دهمرده و همکاران (Dahmardeh et al., 2018) کاهش محتوای پروتئین محلول لوبیا چشم‌بلبلی تحت تنش خشکی را گزارش کرده‌اند که می‌تواند ناشی از سرکوب متابولیسم سلولی، افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده پروتئین باشد (Rasti Sani et al.2018). همچنین یافته‌های فرجام و همکاران (Farjam et al. 2018) نیز کاهش پروتئین محلول برگ نخود در شرایط کم‌آبی را تأیید می‌کند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

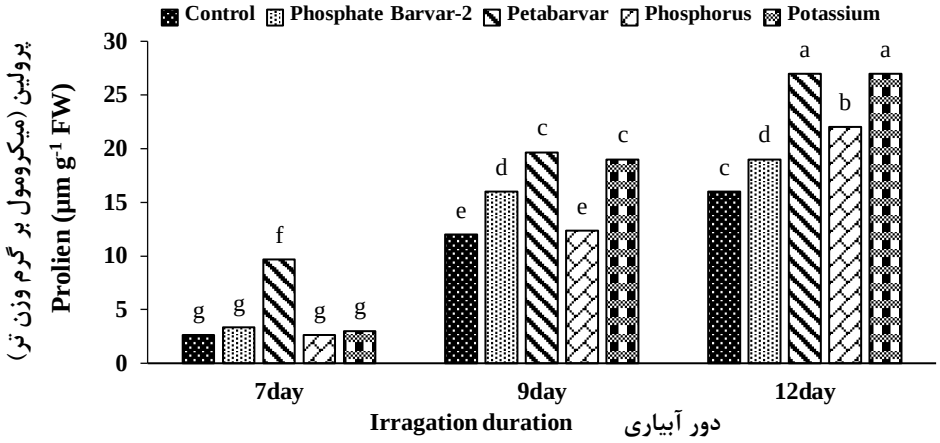
بر اساس مقایسه میانگین‌ها ، تیمار حاوی کود زیستی پتابارور در مقایسه با تیمار شاهد افزایشی معادل ۱۶/۶۶ درصد را نشان داد (جدول ۴). استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر از طریق تحریک بیان ژن‌های مرتبط با سنتز پروتئین، افزایش جذب نیتروژن، و ارتقاء سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه، موجب افزایش محتوای پروتئین در برگ می‌شود (Figueiredo et al., 2008). به‌طور مشابه، رائو رام و همکاران (Rao Ram et al. 2007) گزارش کردند که مصرف کودهای زیستی موجب افزایش جذب نیتروژن و فسفر شده و این امر به افزایش سنتز پروتئین در گیاهان کمک می‌کند. همچنین مومنی و همکاران (Momeni et al., 2019) بیشترین میزان پروتئین محلول را در شرایط استفاده از کود فسفر حداکثری و عدم مصرف کود زیستی گزارش کردند. از سوی دیگر، تنهایی و همکاران (Tanhaie et al., 2023) بالاترین غلظت پروتئین محلول در برگ لوبیا قرمز را در تیمار تلفیقی باکتری‌های حل‌کننده فسفر و قارچ مایکوریزا و کمترین آن را در تیمار شاهد مشاهده کردند.

پرولین

برهمکنش دور آبیاری× منبع کودی بر میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود (جدول ۲). در دور آبیاری ۷ روز به همراه تیمارهای کودی فسفات‌بارور۲، پتاسیم و فسفر و بدون کود(شاهد) باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما بیشترین پرولین در تیمار دور آبیاری ۱۲ روز به همراه کود پتابارور به‌دست آمد. که با دور آبیاری ۱۲روز به همراه کود پتاسیم اختلاف معنی‌داری نداشتند و بیشترین پرولین برگ را داشتند (شکل ۱). در کل نتایج نشان داد بیشترین مقدار پرولین در تیمار دور آبیاری ۱۲ روزه به همراه مصرف کود پتاسیم و کمترین مقدار پرولین در تیمار شاهد (دور آبیاری ۷ روز بدون مصرف کود) ثبت گردید (شکل ۱). فرآورده‌های ناشی از تجزیه پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه‌ای مانند پرولین هستند که در شرایط خشکی تجمع می‌یابند. این ترکیبات نقش مهمی در سازگاری اسمزی ایفا کرده و می‌توانند به‌عنوان مواد ذخیره‌ای مورد استفاده قرار گیرند. علاوه بر این، پرولین و سایر اسیدهای آمینه حاصل از تجزیه پروتئین‌ها قادرند در بازسازی ترکیبات ثانویه و بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش نقش داشته باشند (Lee et al., 2019).

نسخه پیش از انتشار

از طرفی افزایش میزان پرولین یکی از پاسخ‌های سازشی رایج گیاهان در برابر تنش خشکی است که نقش کلیدی در حفظ ساختار سلولی و تثبیت غشاها ایفا می‌کند (Liu et al., 2021؛ Heber et al., 1971). در مطالعات مختلف، افزایش پرولین در برگ لوبیا تحت شرایط خشکی گزارش شده است که از مهم‌ترین دلایل آن می‌توان به تجزیه پروتئین‌ها و کاهش مصرف اسیدآمینه پرولین در شرایط تنش اشاره کرد (Rajaei-Nejad et al., 2022). نتایج این پـژوهش هم‌سو با یافته‌های مارتینز و همکاران (Martins et al., 2024) و مجید و همکاران (Mageed et al., 2023) نشان داد که با شدت یافتن تنش خشکی میزان پرولین در لوبیا چشم بلبلی افزایش یافت. از سوی دیگر، پتاسیم به عنوان یک عنصر تغذیه‌ای ضروری، در تنظیم متابولیسم اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین نقش دارد و با بهبود سنتز پرولین، تحمل گیاه به تنش را افزایش می‌دهد (Desuloux et al., 2000؛ Azmat et al., 2010). یان و همکاران (Yin et al. 2018) در تحقیقات خود اظهار نمودند کاربرد پتاسیم به صورت محلول‌پاشی سبب افزایش پرولین در برگ‌های لوبیا سبز می‌شود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. بنابراین، به نظر می‌رسد ترکیب تغذیه پتاسیم و شرایط تنش رطوبتی می‌تواند به‌صورت هم‌افزا در افزایش پرولین و تقویت سازوکارهای دفاعی گیاه مؤثر واقع شود.



شکل ۱. اثر برهمکنش دور آبیاری و منبع کودی بر میزان پرولین. اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارد.

Fig. 1. Interaction effect of irrigation interval and fertilizer source on proline content. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level based on the LSD test.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

اثر ساده دور آبیاری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز لوبیاچشم‌بلبلی در سطح احتمال یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار شد (جدول ۲). با توجه به جدول ۳، با افزایش فاصله آبیاری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۹۰ درصد افزایش نشان داد. در شرایط کم‌آبی، گیاهان دچار استرس اکسیداتیو می‌شوند که ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. این وضعیت ممکن است موجب کاهش فعالیت APX گردد؛ چراکه گیاه برای سم‌زدایی از ROS به سنتز آنزیم‌های دفاعی نیاز دارد، اما در شرایط تنش، این توانایی محدود می‌شود و در نتیجه آسیب‌های اکسیداتیو افزایش می‌یابد (Hosseini, 2015; Lotfi, 2009). به‌گزارش محققان، یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در گیاهان، آنزیم آسکوربات پراکسیداز است که با احیای رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه پراکسید هیدروژن، نقش کلیدی در کاهش آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند (Emami Bistgani and Bakhshandeh, 2021). در همین راستا، نتایج مطالعه‌ای توسط خسروشاهی و همکاران (Khosrowshahi et al., 2020) بر روی گیاه روغنی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت شرایط تنش خشکی، نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز، به‌همراه افزایش میزان پرولین، به‌طور معنی‌داری

افزایش یافت که با یافته‌های پژوهش حاضر نیز مطابقت دارد. به‌طور مشابه، السید و همکاران (ElSayed et al, 2019) نیز در بررسی اثر تنش خشکی بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی خارمریم، افزایش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را گزارش کردند. همچنین، سیدابراهیمی و همکاران (Seyed Ebrahimi et al,. 2016) در پژوهش خود روی کلزا نشان دادند که تنش خشکی منجر به افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز می‌شود.

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس بیانگر این بود سطوح مختلف دور آبیاری تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشته‌اند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین دور آبیاری بر صفت آنزیم کاتالاز در گیاه لوبیا چشم بلبلی نشان داد که با افزایش فاصله بین آبیاری‌ها میزان ۹۰ درصد فعالیت این آنزیم افزایش داشته‌است (جدول ۳). یکی از آنزیم‌های کلیدی در سیستم دفاعی، کاتالاز است که با تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در پراکسی‌زوم‌ها، نقش مؤثری در کاهش سمیت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] دارد (Jiang and Huang, 2001). افزایش فعالیت این آنزیم موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی و ارتقاء عملکرد می‌شود (Rezaeiniya et al., 2019). زرافی و همکاران (Zafari et al., 2020) نیز در مطالعه‌ای بر روی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ تحت تنش خشکی گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پرولین به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. به‌طور مشابه، در آزمایشی بر روی ماش، افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش خشکی مشاهده شد (Sadeghipour, 2018). همچنین، در مطالعه‌ای بر روی نخود، مشخص شد که با افزایش شدت تنش خشکی، فعالیت آنزیم کاتالاز نیز افزایش می‌یابد و این افزایش در ارقام متحمل بیشتر از ارقام حساس بود، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Rezaeiniya et al., 2019). در پژوهش دیگری که تنش کم‌آبی را در گیاه لوبیا سبز بررسی کرد، مشخص شد که تنش خشکی بر فعالیت کاتالاز و نشت یونی معنی‌دار بوده و تنش کم‌آبی نسبت به تیمار شاهد، باعث افزایش قابل توجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده است (Hoseini et al., 2020).

سطح برگ

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها، سطوح مختلف دور آبیاری و منبع کودی بر سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان سطح برگ در شرایط دور آبیاری ۷ روز و کمترین میزان سطح برگ در شرایط دور آبیاری ۱۲ روز حاصل شد که نشان دهنده کاهش ۶۱/۸۶ درصدی سطح برگ بود (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد تنش خشکی تعداد برگ‌های تولید شده توسط هر گیاه را کاهش می‌دهد و اندازه برگ‌ها را نیز کوچک‌تر می‌کند (Abo-Alhassan, 2022). به‌طور کلی، تنش خشکی موجب کاهش اندازه برگ‌ها، شاخص سطح برگ و فشار تورژسانس در بافت‌های گیاهی می‌شود (Hu et al., 2013). محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2018) در آزمایشی بر روی لوبیا گزارش کردند که اعمال تنش خشکی موجب کاهش سطح برگ ارقام مختلف لوبیا در مقایسه با تیمار شاهد گردید. همچنین، راستی سانی و همکاران (Rasti Sani et al., 2018) در پژوهشی بر روی لوبیاچیتی نشان دادند که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر سطح برگ دارد. در این مطالعه، ارقام تحت شرایط تنش خفیف و متوسط تحمل نسبی مناسبی نشان دادند، اما در بالاترین سطح تنش (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، حساسیت بیشتری مشاهده شد. یافته‌های پژوهش حاضر نیز با این نتایج همخوانی دارد و نشان می‌دهد که افزایش شدت تنش خشکی به‌طور مستقیم موجب کاهش سطح برگ و تشدید اثرات منفی بر رشد گیاه می‌گردد.

نتایج مقایسه میانگین در تیمارهای کودی نشان داد که بیشترین میزان سطح برگ در تیماری که کود پتانارور به کار رفته بود، مشاهده شد. این میزان سطح برگ با دیگر تیمارهای کودی تفاوت معنی‌داری نداشت. در مقابل، کمترین میزان سطح برگ در شرایط عدم استفاده از کود (شاهد) ثبت شد (جدول ۳). یکی از دلایل افزایش سطح برگ در تیمارهای تلقیح‌شده با کود زیستی، تولید متابولیت‌های مؤثر در رشد گیاه، از جمله هورمون‌های محرک رشد است که به‌عنوان عوامل تقویت‌کننده رشد گیاه عمل می‌کنند. علاوه بر این، فعالیت باکتری‌ها موجب گسترش سطح ریشه و در نتیجه افزایش توانایی گیاه در جذب عناصر غذایی از نواحی عمیق‌تر

[1] Reactive oxygen species

نسخه پیش از انتشار

و دورتر خاک می‌شود (Hamidi, 2006). یوسفی و همکاران (Yousefi et al., 2020) گزارش کردند که تیمار ترکیبی شامل باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، حل‌کننده فسفر و پتاسیم در ژنوتیپ دزفولی ماش باعث افزایش ۳۷ و ۴۲ درصدی در شاخص سطح برگ (LAI) شد. همچنین گلیک (Glick, 2012) گزارش کرد که باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌طور معنی‌داری موجب افزایش سطح برگ در گیاهان تلقیح‌شده در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح می‌شوند.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر دور آبیاری بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چشم بلبلی

Table 3. Comparison of mean effects of irrigation intervals on physiological and biochemical traits of cowpea

دور آبیاری Irrigation duration	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	پروتئین Protein	آسکوربات Ascorbate	کاتالاز Catalase	سطح برگ Leaf Area
days	---------- mg g^{-1} FW ----------					---- µmol min^{-1} mg^{-1} protein ---		cm^2
7	0.98 ^{c}	4.30 ^{a}	3.28 ^{a}	0.98 ^{c}	0.69 ^{a}	0.01 ^{c}	0.002^{c}	7.84^{a}
9	1.22 ^{b}	3.60 ^{b}	2.31 ^{b}	1.22 ^{b}	0.67 ^{ab}	0.09 ^{b}	0.01 ^{b}	6.72 ^{a}
12	1.25 ^{a}	1.78 ^{c}	1.03 ^{c}	1.25 ^{a}	0.65 ^{b}	0.10 ^{a}	0.02 ^{a}	2.99 ^{b}

حروف مشابه نشاندهنده عدم معنی داری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد

Similar letters indicate nonsignificance based on LSD test at the 5% probability level

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر منبع کودی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چشم بلبلی

Table 4. Mean comparison of fertilizer source effects on physiological and biochemical traits of cowpea

Fertilizer source	منبع کودی	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	پروتئین Protein	سطح برگ Leaf Area
		---------- mg g^{-1} FW ----------			cm^2
Control	شاهد	2.64 ^{b}	1.89 ^{b}	0.60 ^{c}	2.8 ^{b}
Phosphate Barvar-2	فسفات بارور ۲	3.6 ^{a}	2.31 ^{a}	0.72 ^{a}	6.94 ^{a}
Pentabarvar	پتابارور	3.4 ^{a}	2.29 ^{a}	0.68 ^{ab}	7.02 ^{a}
Phosphorus	فسفر	2.98 ^{a}	2.23 ^{a}	0.68 ^{ab}	6.87 ^{a}
Potassium	پتاسیم	3.5 ^{a}	2.3 ^{a}	0.66 ^{b}	5.63 ^{a}

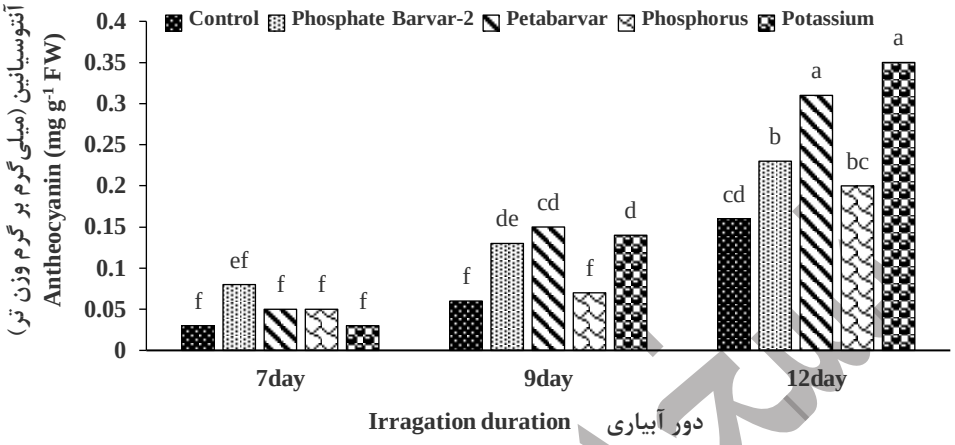
حروف مشابه نشاندهنده عدم معنیداری براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد

Similar letters indicate nonsignificance based on LSD test at the 5% probability level.

آنتوسیانین

آنتوسیانین‌ها بخشی از ترکیبات فنولی هستند و گروه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند، بنابراین، علاوه بر داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Ling-Wang et al., 2010). نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که اثر سطوح دور آبیاری، منبع کودی و ترکیب تیماری این عوامل بر آنتوسیانین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). بیشترین میزان آنتوسیانین در شرایط دور آبیاری ۱۲ روز به همراه کاربرد کود پتاسیم به‌دست آمد که با تیمار دور آبیاری ۱۲ روز به همراه کاربرد پتابارور اختلاف معنی‌داری نداشت، در حالی‌که کمترین میزان آنتوسیانین در شرایط دور آبیاری ۷ روز بدون مصرف کود (شاهد) حاصل شد (شکل ۲). با توجه به اینکه بیشترین میزان آنتوسیانین در شرایط محدودیت شدید آبی مشاهده شد، می‌توان علت این افزایش را به نقش حفاظتی نوری آنتوسیانین از طریق حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در طول تنش اکسیداتیو نسبت داد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که سنتز آنتوسیانین‌ها در شرایط تنش‌های محیطی مانند خشکی افزایش می‌یابد و گیاه را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت کرده و باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی، به‌ویژه خشکی، می‌شود (Sun et al., 2021). راشکی و پیری (Rashki and Piri, 2021) گزارش نمودند که با کاهش مقدار آب آبیاری مقدار آنتوسیانین چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) افزایش یافت. همچنین طاها (Taha, 2018) در تحقیق خود به این نتیجه رسید عنصر پتاسیم نیز در سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله آنتوسیانین‌ها در لوبیا نقش دارد. این نتایج با یافته‌های

ابوالحسن (Abo-Alhassan, 2022) که معتقدند کاربرد کود پتاسیم می‌تواند تحمل به خشکی را در باقلا افزایش دهد و تولید آنتوسیانین را بهبود بخشد همخوانی دارد.

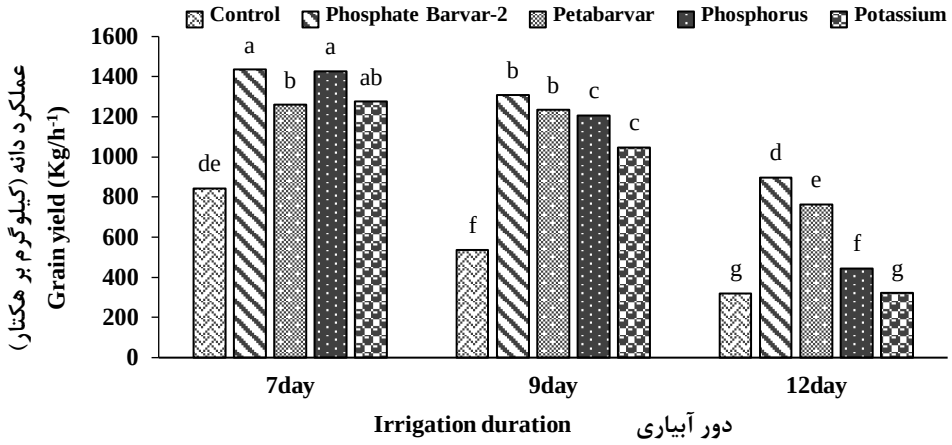


شکل ۲. اثر برهمکنش دور آبیاری و منبع کودی بر میزان آنتوسیانین. اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارد.

Fig. 2. Interaction effect of irrigation interval and fertilizer source on anthocyanin content. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level based on the LSD test.

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهمکنش دور آبیاری در منبع کودی بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین عملکرد دانه از تیمار دور آبیاری ۷ روز به همراه مصرف کود فسفات بارور۲ با میانگین ۱۴۳۴/۹۵ کیلوگرم در هکتار حاصل گردید که نسبت به تیمار دور آبیاری ۱۲ روزه بدون مصرف کود با میانگین ۳۲۰ کیلوگرم در هکتار ۷۷/۶۹ درصد افزایش نشان داد (شکل ۳). شدت تنش خشکی نیز با کاهش کربوهیدرات‌ها، کاهش تولید ماده خشک و افت عملکرد دانه همراه است. کاهش سطح برگ نیز موجب کاهش جذب نور، کاهش فتوسنتز و نهایتاً کاهش انتقال مواد فتوسنتزی به دانه می‌شود (Setter, 1990). همچنین در شرایط آبیاری کامل، عملکرد دانه بالاتر است، زیرا وجود رطوبت کافی در خاک موجب جذب بهتر آب و عناصر غذایی، افزایش فتوسنتز، تولید ماده خشک و در نهایت رشد بهتر گیاه می‌شود (Shamohammadi et al., 2024). از طرفی مصرف کود فسفر نیز با افزایش شدت و دوام فتوسنتز و بهبود انتقال مواد به دانه، موجب افزایش عملکرد نهایی محصول می‌شود (Moazami et al., 2020). در این راستا، بدل زاده و رفیع-الحسینی (Badalzadeh and Rafieiolhossaini, 2023) گزارش کردند که بیشترین عملکرد دانه سیاهدانه (۵۹۰۷ کیلوگرم در هکتار) در تیمار آبیاری ۵۰ میلی‌متر با مصرف ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفر حاصل شد. همچنین، نتایج ماتا و همکاران (Mataa et al., 2019) نشان داد که افزایش فسفر خاک در شرایط تنش آبی، عملکرد دانه لوبیا را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی‌دارد.



شکل ۳. اثر برهمکنش دور آبیاری و منبع کودی بر میزان عملکرد دانه. اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارد.

Fig. 3. Interaction effect of irrigation interval and fertilizer source on grain yield. Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level based on the LSD test

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این آزمایش نشان داد تنش خشکی باعث کاهش صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چشم‌بلبلی شد، البته بیشترین مقدار کارتنوئید و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در آبیاری ۱۲ روز مشاهده شد که به‌عنوان مکانیزم تحمل به خشکی در نظر گرفته می‌شود. همچنین مصرف کود فسفات بارور ۲ و پتابارور منجر به بهبود کلروفیل، پروتئین و سطح برگ گردید، هرچند برخی از این تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنادار نبودند. نتایج همچنین نشان داد کمترین مقدار پارمترهای محاسبه‌شده در این تحقیق در سطح عدم مصرف کود و دور آبیاری ۱۲ روز و بیشترین مقدار آن‌ها در سطح کود فسفات بارور۲ و دور آبیاری ۷ روز مشاهده شد که نمایانگر این موضوع است کودهای زیستی فسفات بارور۲ با بهره‌گیری از توانایی در جذب و ذخیره‌سازی آب و آزادسازی تدریجی آن در زمان نیاز گیاه، بر رشد بافت‌های مختلف گیاهی و تولید محصول بیشتر، موثر واقع شده است. به‌طور کلی می‌توان گفت کود زیستی فسفات بارور-۲ تحت شرایط تنش کم‌آبی می‌تواند منجر به تولید حداکثر عملکرد و بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چشم‌بلبلی گردد.

منابع

Abid, M., Hakeem, A., Shao, Y., Liu, Y., Zahoor, R., Fan, Y., Suyu, J., Ata-Ul-Karim, S.T., Tian, Z., Jiang, D. Snider, J.L., 2018. Seed osmopriming invokes stress memory against post-germinative drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Environmental and Experimental Botany. 145, 12-20. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.002

Abo-Alhassan, A., Hassanein, A. E., Abd El-Aziz, M., Abou Tahoun, A., 2022. Effect of phosphorus and potassium fertilization on drought tolerance of broad bean (*Vicia faba* L.). Scientific Journal of Agricultural Sciences. 4(1), 114-124. https://doi.org/10.21608/sjas.2022.132843.1215

Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105, 121–126. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23, 112-121.

Azmat, R., Akhter, H., 2010. Changes in some biophysical and biochemical parameters of mungbean [*Vigna radiata* (L.) wilczek] grown on chromium-contaminated soils treated with

solid tea wastage. Pakistan Journal of BotanyPak. 42(5), 3065-3071.

Badalzadeh, A. Rafieiolhossaini, M., 2023. The effects of irrigation regimes, row spacing and phosphorous fertilizer on yield and yield components of *Nigella sativa* L. Crop Production Journal. 16 (1), 43-60. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22069/ejcp.2023.19778.2479

Baqizadeh, A., Haj Mohammadrezaei, M., Tohidi, Z., 2020. Evaluation of interaction effect of drought stress with ascorbate and salicylic acid on the activity of some antioxidant enzymes and flavonoids in *Hibiscus esculentus* L. Cellular and Molecular Research Journal (Iranian Biology Journal). 33(1), 35-43. [In Persian with English Summary]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832738.1399.33.1.5.5.

Barjas, M., Mehravaran, L., Allahdou, M., Ganjali, S., 2022. Effects of application of salicylic acid under the drought stress on morphophisiological and biochemical traits of two varieties of mung bean. Crop Science Research in Arid Regions. 4(1), 153-171. [In Persian with English Summary] https://doi.org/10.22034/csrar.2022.309460.1139

Bates, L.S., Waldren, R.P. Teare, J.D., 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Belay, F., Gebreslasie, A., Meresa, H., 2017. Agronomic performance evaluation of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] varieties in Abergelle District, Northern Ethiopia. Journal of Plant Breeding and Crop Science. 139-143. http://dx.doi.org/10.5897/JPBCS2017.0640.

Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F., Marzouk, B., 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. Acta Physiologiae Plantarum. 33, 1103–1111. https://doi.org/10.1007/S11738-010-0638-Z.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.

Ceritoglu, M., Erman, M., Çığ, F., Ceritoglu, F., Uçar, Ö., Soysal, S., El Sabagh, A., 2023. Enhancement of root system architecture, seedling growth, and germination in lentil under salinity stress by seed priming with silicon and salicylic acid. Polish Journal of Environmental Studies. 32(5), 4481–4491. https://doi.org/10.15244/pjoes/168941

Chaves, M. M., Flexas, J., Pinheiro, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany. 103(4), 551-560. https://doi.org/10.1093/aob/mcn125

Dahmardeh, M., Mahmoud, M., Khamri, A., 2018. The effect of biological fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of bean (*Vigna unguiculata* L. Walp) in drought stress condition. Environmental Stresses in Crop Sciences. 11(1), 23-33. [In Persian]. https://doi.org/10.22077/escs.2017.149.1035

Desuloux, D., Huynh, T.T., Roumet, P., 2000. Idaetification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. Crop Science. 40, 716-722. https://doi.org/10.2135/cropsci2000.403716x

ElSayed, A.I., El-hamahmy, M.A., Rafudeen, M.S., Mohamed, A.H., Omar, A.A., 2019. The impact of drought stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) gaertn). Plants. 8, 611. https://doi.org/10.3390/plants8120611

Emadi, N., Balouchi, H.R., Jahanbin, Sh., 2012. Effect of drought stress and plant density on yield, yield components and some morphological characters of pinto bean (cv. C.O.S16) in Yasouj region. Electronic Journal of Crop Production. 5(2), 1-17. [In Persian with English summary].

Emami Bistgani, Z., Bakhshandeh, A., 2021. Physiology of Environmental Stresses in Medicinal Plants. Agricultural Education Publishing, Tehran, Iran. 444 p.

Farjam, S., Siosemardeh, A., Kazemi, A. H., Yarnia, M., Rokhzadi, A., 2018. Effects of ascorbic and salicylic acid foliar application on physiological traits of two chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.) under drought stress conditions. Iranin Journal of Pulses Research. 9(1), 99-117. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.22067/ijpr.v8i2.48451

Figueiredo, M.V.B., Martinez, C.R., Burity, H.A., Chanway, C.P., 2008. Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24(7), 1187-1193. https://doi.org/10.1007/S11274-011-0979-9

Ghazizadeh, S.M., Amerian, M.R., Asghari, H.R. Asadi Rahmani, H., 2023. The investigation of Pseudomonas bacteria on some morphophysiological traits of two cultivars of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) with different irrigation intervals. Enviromental Stresses in Crop Sciences. 15(4), 10327-1057. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22077/escs.2021.4225.1990

Giusti, M.M., Wrolstad, R.E., 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. (1), F1-2. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00.

Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. Scientifica (Cairo). 1-15. https://doi.org/10.6064/2012/963401

Gupta, N., Shrivastava, N., Singh, P.K., Bhagyawant, S.S., 2016. Phytochemical evaluation of moth bean (*Vigna aconitifolia* L.) seeds and their divergence. Biochemistry Research International. (1), 3136043. https://doi.org/10.1155/2016/3136043.

Hamidi, A. 2006. The application of biofertilizers on yield and forage agroecolocgic aspects of late corn silage hybrids. PhD thesis of agriculture, Department of Agriculture, Tarbiat Modrres University. 181p. [In Persian].

Hassanpour, A., Azizi, Kh., Feyzian, M., Ismaeili, A., 2020. Study the effect of Phosphate Barvar-2 biofertilizer, iron nano-chelate and superabsorbent on qualitative and quantitative yield of chickpea (*Cicer arietinum* under dry farming conditions. Iranian Journal of Legume Research. 11(2), 62-75. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22067/ijpr.v11i2.70978

Heber, U., Tyankova, L. Santarius, K. A., 1971. Stabilization and inactivation of biological membranes during freezing in the presence of amino acids. Biochimica et Biophysica Acta. 241 (2), 578-592. https://doi.org/10.1515/bc.2000.020

Heidari, H., Alizadeh, Y., Fazeli, A., 2019. Effects of seed priming and foliar application of salicylic acid on some of physiological characteristic and yield on mung bean (*vigna radiata* L.) under drought stress condition. Journal of Plant Production (Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 26(2), 127-141. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22069/jopp.2019.14863.2327

Heshmati, S., Amini Dehaghi, M., Rezazadeh, A. R. Fathi Amirkhiz, K., 2016. Study the effect of different phosphorus fertilizers on physiological characteristic of photosynthetic pigments and soluble sugars of safflower under water deficit condition. Iranian Journal of Field Crops Research, 14(2), 304- 3017. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22067/gsc.v14i2.39436

Hoseini, Z., Barzegar, T., Ghahremani, Z., Nikbakht, J., 2020. Physiological responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Sanry) to foliar spray of salicylic acid and biostimulant megafol under deficit irrigation stress. Environmental Stresses in Crop Sciences. 13(3), 845-855. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22077/escs.2020.2253.1574

Hosseini, S. M., Hasanloo, T., Mohammadi, S., 2015. Physiological characteristics, antioxidant enzyme activities, and gene expression in 2 spring canola (*Brassica napus* L.) cultivars under drought stress conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 39(3), 413-420. https://doi.org/10.3906/tar-1405-102

Hou, P., Wang, F., Luo, B., Li, A., Wang, C., Shabala, L., Ahmed, H.A.I., Deng, S., Zhang, H., Song, P., Zhang, Y., 2021. Antioxidant enzymatic ectivity and osmotic adjustment as components of the drought tolerance mechanism in Carex duriuscula. Plants. 10, 436. https://doi.org/10.3390/plants10030436

Hu, Y.Y., Zhang, Y.L., Yi, X.P., Zhan, D.X., Luo, H.H., Chow, W.S. Zhang, W.F., 2013. The relative contribution of non-foliar organs of cotton to yield and related physiological characteristics under water deficit. Journal of Integrative Agriculture. 13(5), 975-989. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60568-7

Hun, H.S. Lee, K.D., 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 1(3), 210-215.

Ji, J., Zhang, C., Sun, Z., Wang, L., Duanmu, D., Fan, Q., 2019. Genome editing in cowpea (*Vigna unguiculata*) using CRISPR-Cas9. International Journal of Molecular Sciences. 20(10), 2471. https://doi.org/10.3390/ijms20102471

Jiang, Y., Huang, B., 2001. Drought and Heat stress injure to two cool- season turfgrass in relation to Antioxidant, Metabolism and Lipid Peroxidation. Crop Science. 41, 436-442. https://doi.org/10.2135/cropsci2001.412436x

Khosrowshahi, Z.T., Ghassemi -Golezani, K., Salehi -Lisar, S.Y. Motafakkerazad, R. 2020. Changes in antioxidants and leaf pigments of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) affected by exogenous spermine under water deficit. Biologia Futura. 71, 313-321. https://doi.org/10.1007/s42977-020-00039-z

Kiran, B.V.S., Kalegore, N.K., Suryavanshi, V.P., Ghotmukale, A.K., Vaidya, P.H. 2020. Integrated nutrient management and relationship studies in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) under rainfed conditions. International Journal of Chemical Studies. 8(4), 1411-1415. https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i4m.9796

Lambers, H., 2022. Phosphorus acquisition and utilization in plants. Annual Review of Plant Biology. 73(1), 17-42. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102720-125738

Lee, B.R., Islam, M.T., Park, S.H., Jung, H.I., Bae, D.W., Kim, T.H., 2019. Characterization of salicylic acid-mediated modulation of the drought stress responses: Reactive oxygen species, proline, and redox state in Brassica napus. Environmental and Experimental Botany, 157, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.09.013

Lee, B., Li, L., Jung, W., Jin, Y., Avice, J., Ourry, A., Kim, T., 2009. Water deficit-induced oxidative stress and the activation of antioxidant enzymes in white clover leaves. Biologia Plantarum. 53, 505-510. https://doi.org/10.1007/s10535-009-0091-2

Lin-Wang, K., Bolitho, K., Grafton, K., Kortstee, A., Karunairetnam, S., McGhie, T.K., Espley, R.V., Hellens, R.P., Allan, A.C., 2010. An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae. BMC Plant Bology. 10,1-17. https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-50

Liu, B.H., Jing, D.W., Liu, F.C., Ma, H.L., Liu, X.H., Peng, L., 2021. Serendipita indica alleviates drought stress responses in walnut (*Juglans regia* L.) seedlings by stimulating osmotic adjustment and antioxidant defense system. Applied Microbiology and Biotechnology. 105, 8951-8968. https://doi.org/10.1007/s00253-021-11653-9

Lotfi, N., Vahdati, K., Hassani, D., Kholdebarin, B., Amiri, R., 2009. Peroxidase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase activity accumulation in leaves and roots of walnut trees in response to drought stress. Acta Horticalturae. 861, 309-316. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.861.42

Mageed, T., Semida, W., Hemida, K., Gyushi, M., Rady, M., Abdelkhalik, A., Merah, O., Brestič, M., Mohamed, H., Sabagh, E., Abdelhamid, M., 2023. Glutathione-mediated changes in productivity, photosynthetic efficiency, osmolytes, and antioxidant capacity of common beans (*Phaseolus vulgaris*) grown under water deficit. PeerJ, 22:11:e15343. https://doi.org/10.7717/peerj.15343

Marschner, H., 2011. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic Press. https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9

Martins, J.T.S., Costa, T.C., Machado, L.C., Ferreira, R.L.C., Nascimento, V.R., Braga, D.G., Brito, A.E.A., Nogueira, G.A.S., Souza, L.C., Medeiros, J.C.A. Silva, T.M., 2024. Osmotic regulators in cowpea beans plants under water deficiency. Brazilian Journal of Biology. 84 (e281457), 1-9. https://doi.org/10.1590/1519-6984.281457

Mataa, M., Mphande, K., Munyinda, K., 2019. Interactive effects of phosphorus and water stress on plant development and yield resilience in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). African Journal of Agricultural Research. 14(22), 949-962. https://doi.org/10.5897/AJAR2019.14069

Moazami, S., Dadashi, M. Ajam Norouzi, H., 2020. Effect of drought tension, Nitrogen

supply and planting density on yield and yield components of sunflower (*Helianthus annuus* L.) Haissan cultivar in the North of Goleston province. Iranian Journal of Crop Physiologhy. 12(48), 63-79. [In Persian with English Summary]. https://www.sid.ir/paper/390189/en

Mohammadi, M., Tavakoli, A., Pouryousef, M., Mohsenifard, E., 2018. The effect of epibrassinolide on growth and seed yield of bean under optimal irrigation and drought stress conditions. Journal of Crops Improvement. 20(3), 595-608. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22059/jci.2018.249057.1913

Momeni, M., Gholami, A., 2019. Evaluation effect of livestock manure and urea fertilizer on quantitative and qualitative characteristics of corn (SC 704) and correlation between traits. Journal of Crop Nutrition Science. 5(2), 1-11.

Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology. 59(1), 651-681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911

Parmoon, G., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Hashemi, M., Moosavi, A., 2019. Assessing photosynthetic performance of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) influenced by plant growth regulators and drought stress imposed at vegetative and reproductive stages. Italian Journal of Agronomy, 14, 13-19. https://doi.org/10.4081/ija.2019.1319.

Rajaei-Nejad, S., Jahanbin, S. Balouchi, H., 2022. Study of deficit irrigation on physiological indices, seed yield and yield components traits of chitti bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Yasouj climate conditions. Environmental Stresses in Crop Sciences. [In Persian with English Summary]. 15(2), 347-360. https://doi.org/10.22077/escs.2020.3745.1904.

Ram Rao, D.M, Kodandaramaiah, J., Reddy, M.P., Katiyar, R.S., Rahmathulla, V.K., 2007. Effect of VAM fungi and bacterial biofertilizers on mulberry leaf quality and silkworm cocoon characters under semiarid conditions. Caspian Journal of Environmental Sciences. 5(2), 111-117.

Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Sodi, A.M., Soldatini, G.F., 2003. Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. Journal of Experimental Botany. 54, 2529-2540. https://doi.org/10.1093/jxb/erg270.

Rashki, P., Piri, H., 2021. Effect of different levels of potassium fertilizer and irrigation water on physiological characteristics and yield plant of roselle. Iranian Journal of Irrigation and Drainage. 14(6), 2136-2147. [In Persian with English Summary]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.20087942.2021.14.6.2.3

Rasti Sani, M., Ganjeali, A., Lahouti, M., Mousavi Kouhi, S. M., 2018. Morphological and physiological responses of two common bean cultivars to drought stress. Journal of Plant Process and Function. 6(22), 37-46. [In Persian with English Summary]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1396.6.22.9.3

RezaeiniyaRezaeinia, M., Bihamta, M., Peighambari, S.A., Abbsi, A. R., 2019. Effect of drought stress on antioxidant enzymes activities and some physiological traits in chickpea (*Cicer Arietinum* L.). Journal of Computational Biology. 11(30), 11-22. https://doi.org/10.29252/JCB.11.30.11

Rukmini, MS., Benedicate, DS., Vivandd, S., 2004. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 19,114-118. https://doi.org/10.1007/BF02894268

Saber, N.E., El Hosary, E.G., Mabrouk, M.E., Ghoraba, W.F., Hassan, A.M., 2021. Influence of seed-nanopriming treatment with zinc oxide on growth, nutrient status, and gene expression of enzymatic antioxidants in wheat plant. The Egyptian Journal of Experimental Biology. 17(1), 77-90. https://doi.org/10.5455/egyjebb.20210705083704

Sadat Rasti Sani, M., Lahouti, M. Ganjeali, A., 2014. Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Pulses Research. 5(1), 103-116. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22067/ijpr.v1393i1.46210

Sadeghipour, O., 2018. Investigation the role of nitric oxide in drought tolerance of mung bean (*Vigna radiata* L.). Journal of Plant

Environmental Physiology. 13(51), 17–29. https://dorl.net/dor/20.1001.1.76712423.1397.13.51.2.9

Sayeed, V.K.I., Satish, S., Kumar, A., Hegde, K., 2017. Pharmacological activities of *Vigna unguiculata* (L) Walp: A review. International Journal of Pharma and Chemical Research. 3(1), 44-49.

Setter, T.L. 1990. Transport/harvest index: Photosynthetic partitioning in stressed plants. In: Alscher, R.G., Cumming, J.R. (eds.), Stress Responses in Plant: Adaptation and Accumulation Mechanism. Wiley-Liss, Inc. New York. pp. 17-36.

Seyed Ebrahimi F.S., Hassani Kumleh, H., Alami, A., Rezadoost, M.H., 2016. Drought stress effects on morphological traits and enzymatic antioxidant activity of two rapeseed (*Brassica napus*) cultivars. Plant Process and Function. 4(14), 77-92. [In Persian with English Summary]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23222727.1394.4.14.11.5

Seyed Sharif, R., Seyed Sharifi, R., 2020. Effects of starter nitrogen, methanol and biofertilizers application on yield, nodulation and grain filling period of rainfed lentil. Journal of Crops Improvement. 22(3), 445-460. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22059/jci.2020.292605.2295

Shamohammadi, N., Zare, M., Ordukhani, K., Aref, F., Sharafzadeh, S., 2024. Grain corn yield under the influence of water deficit stress, biological and chemical fertilizers. Iranian Journal of Field Crop Science. 55(1), 23-36. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2023.352991.654966.

Shao, H.B., Chu, L.Y., Shao, M.A., Jaleel, C.A., Hong-mei, M., 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. Comptes rendus. Biologies. 331(6), 433-441. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.03.011

Shokouhfar, A., Abofatilehnezhad, S., 2013. Effect of drought stress on some physiological traits and biological yield of different cultivars of mung (*Vigna radiate* (L.)) in Dezful. Crop Physiology. 5(17), 49- 59. [In Persian with English Summary]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.2008403.1392.5.17.4.9

Sun, X., Zhang, Q., Zhou, H., 2021. Anthocyanins: from biosynthesis regulation to crop improvement. Botany Letters. 168(4), 546-557. https://doi.org/10.1080/23818107.2021.1909498

Taha, S.S., Osman, A.S., 2018. Influence of potassium humate on biochemical and agronomic attributes of bean plants grown on saline soil. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 93(5), 545-554. https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1416960

Tanhaie, R., Yadavi, A., Dehnavi, M. M., Salehi, A., Rafiee, S., Hamidian, M., 2023. The effect of mycorrhizal fungi and phosphorus solubilizing bacteria on physiological traits and grain yield of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in different irrigation regimes. Journal of Crop Production. 15(4), 39-60. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.22069/ejcp.2023.19247.2438

Tariq, A., Pan, K., Olatunji, O. A., Graciano, C., Li, Z., Sun, F., Sun, X., Song, D., Chen, W., Zhang, A., Wu, X., Zhang, L., Mingrui, D., Xiong, Q., Liu, C., 2017.Phosphorous application improves drought tolerance of Phoebe zhennan. Frontiers in plant science. 8, 1561. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01561

Tohidinia, M.A., Mazaheri, D., Bagher-Hosseini, S.M., Madani, H. 2013. Effect of biofertilizer Barvar-2 and chemical phosphorus fertilizer application on kernel yield and yield components of maize (*Zea mays* cv. SC704). Iranian Journal of Crop Sciences. 15 (4) :295-307. [In Persian with English Summary]. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.15625540.1392.15.4.1.5

Vassilevska-Ivanova, R.D., Shtereva, L., Stancheva, I., Geneva, M., 2016. Drought stress responses of sunflower germplasm developed after wide hybridization. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 4(10), 859-866. https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i10.859-866.791

Wu, J., Wang, J., Hui, W., Zhao, F., Wang, P., Su, C., Gong, W. 2022. Physiology of plant responses to water stress and related genes: A review. Forests, 13(2), 324. https://doi.org/10.3390/f13020324

Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M.H., 2005. Effects of iofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize rowth: A greenhouse trial. Geoderma. 125, 155–166. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.07.003.

Yadollahi, F.N., Karimi, M., Tadayon, M.R., Rafieiolhossaini, M., 2023. The effect of nitrogen and phosphorus biofertilizers on photosynthetic pigments, grain yield, yield components and grain protein content of two pea (*Pisum sativum* L.) varieties under different irrigation regimes. 13(4), 77-95. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.47176/jcpp.13.4.34851

Yin, Z., Guo, W., Xiao, H., Liang, J., Hao, X., Dong, N., Leng, T., Wang, Y., Wang, Q., Yin, F., 2018. Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization to achieve expected yield and improve yield components of mung bean. PloS One. 13(10), e0206285. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206285

Yousefi, A., Mirzaeitalarposhti, R., Nabati, J., Soufizadeh, S., 2020. Evaluation radiation use efficiency and growth indicators on two mung bean (*Vigna radiata* L.) genotypes under the influence of biological fertilizers. Journal of Plant Nutrition. 44(8), 1095-1106. https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1862204

Zafari, M., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S. Sedghi, M., 2020. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) biochemical properties, yield, and oil content affected by 24 -epibrassinosteroid and genotype under drought stress. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 68, 6040 - 6047. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06860

Zubillaga, M.M., Aristi, J.P., Lavado, R.S., 2006. Effect of phosphorus and nitrogen fertilization on sun flower (*Helianthus annuus* L.) nitrogen uptake and yield. Journal of Agronomy and Crop Science., 188, 267-274. https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2002.00570.x

نسخه پیش از انتشار