




Biochemical Response and Nutrient Uptake of Common Bean to Humic Acid and Phosphorus Sources (Biological and Chemical) under Deficit Irrigation

Neda Hossinzadeh¹ | Alireza Pirzad² 

1. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. Email: nedahoseinzade72@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. Email: a.pirzad@urmia.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 8 October 2023
Received in revised form
18 November 2024
Accepted 24 November 2024
Published online 30 December 2024

Keywords:

Biological fertilizer
Chlorophyll
Enzyme
Legum
Malondialdehyde

ABSTRACT

Objective: Bean is a global crop and drought stress has many adverse effects on this plant, so it is necessary to use materials that can reduce the harmful effects of stress in plants and also have compatibility with the environment. Therefore, this study was conducted in order to investigate the effect of humic acid and the availability of phosphorus and substituted chemical fertilizers on the physiological response of the common bean.

Method: The research was carried out in the Meshkin Shahr city, Aghbلاغ village, with a latitude of 38° 21' 31" N and a longitude of 47° 39' 53" E. This study was carried out as a factorial experiment in the form of a completely randomized design with two factors and three repetitions. The first factor: drought stress in two levels of full irrigation (100% FC) and deficit irrigation (70% FC); second factor: different sources of fertilizers in 6 levels (chemical P, biological P (Barvar 2), Half chemical P+ Barvar 2 (100 grams/hectare), chemical P (150 kg/hectare)+ Humic Acid (10 liters/hectare), Barvar 2+Humic Acid, and Half chemical P+Barvar 2+ Humic Acid.

Results: The results showed that applying deficit irrigation led to a decrease in some physiological traits such as chlorophyll a and b, while the fertilizer treatment, especially half of phosphate chemical P + Barvar 2 + humic acid significantly increased chlorophyll a, b and total chlorophyll, and increased the absorption of nitrogen, phosphorus and potassium nutrients. The malondialdehyde as a result of the application of phosphate half chemical P + Barvar 2+ Humic Acid, and the activity of the Superoxide Dismutase as a result of drought stress and the treatment of phosphate half chemical P + Barvar 2+ Humic Acid were increased. In the full irrigation treatment (100% FC), no significant statistical differences were observed in seed weight increase among most fertilizer treatments. However, in the deficit irrigation treatment, it was observed that applying stress and fertilizer treatment led to an increase in seed weight, such that the highest seed yield (6,448.2 kg per hectare) was related to deficit irrigation and the fertilizer treatment of "half chemical phosphate fertilizer + bio-phosphate fertilizer Barvar2 + humic acid."

Conclusion: In general, drought stress led to a decrease in the yield and growth factors of beans, and the combined treatment of biofertilizer and humic acid reduced the effect of stress and maintained the plant yield under stress conditions.

Cite this article: Hossinzadeh, N., & Pirzad, A. (2024). Biochemical Response and Nutrient Uptake of *Phaseolus vulgaris* to Humic Acid and Phosphorus Sources (Biological and Chemical) under Deficit Irrigation. *Journal of Crops Improvement*, 26 (4), 805-824. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2024.365576.2856>





پاسخ بیوشیمیایی و جذب عناصر غذایی لوبیا چیتی به هیومیک اسید و منابع فسفر (بیولوژیک و شیمیایی) در شرایط کم آبیاری

ندا حسین زاده^۱ | علیرضا پیرزاد^۲ ✉

۱. گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: nedahoseinzade72@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: a.pirzad@urmia.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰

هدف: لوبیا یک محصول جهانی می باشد و تنش خشکی دارای اثرات سوء بسیاری بر این گیاه می باشد بنابراین استفاده از موادی که بتواند اثرات مضر تنش را در گیاهان کاهش دهد و همچنین دارای سازگاری با محیط زیست باشد، بسیار ضروری می باشد. لذا پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر هیومیک اسید و فراهمی میزان فسفر و جایگزین کودهای شیمیایی در گیاه لوبیا چیتی، و پاسخ فیزیولوژیک آن انجام گرفت. **روش پژوهش:** پژوهش انجام شده در شهرستان مشگین شهر روستای آقباغ با عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۲۱ دقیقه و ۳۱ ثانیه عرض شمالی و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۳۹ دقیقه و ۵۳ ثانیه طول شرقی انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول: تنش خشکی در دو سطح آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و کم آبیاری (۷۰ درصد ظرفیت زراعی)، فاکتور دوم: منابع مختلف کودی در شش سطح (کود شیمیایی فسفات ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی فسفات بارور ۲ (۱۰۰ گرم در هکتار)، نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲، کود شیمیایی فسفات + هیومیک اسید، کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک اسید (۱۰ لیتر در هکتار)، نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک اسید بودند.

یافته ها: نتایج نشان داد اعمال تنش خشکی منجر به کاهش برخی شاخص های فیزیولوژیکی مانند کلروفیل a و b شد. با این حال، تیمار کودی به ویژه نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک اسید منجر به افزایش کلروفیل a، b و کل و افزایش جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم شد. میزان مالون دی آلدئید در اثر اعمال نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک اسید روندی کاهشی نشان داد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر تنش خشکی و تیمار نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک اسید افزایش یافت. در تیمار آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، بین اکثر تیمارهای کودی اختلاف معنی داری از لحاظ آماری در افزایش وزن دانه مشاهده نشد، اما در کم آبیاری مشاهده شد که اعمال تنش و تیمار کودی منجر به افزایش وزن دانه گردید، به طوری که بیشترین عملکرد دانه (۶۴۴۸/۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به کم-آبیاری و تیمار کودی "نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک اسید" بود. **نتیجه گیری:** به طور کلی تنش خشکی منجر به کاهش عملکرد و فاکتورهای رشدی چیتی شد و تیمار ترکیبی کود زیستی و هیومیک اسید اثر تنش کاهش و عملکرد گیاه در شرایط تنش حفظ کرد.

کلیدواژه ها:

آنزیم

کلروفیل

کود زیستی

لگوم

مالون دی آلدئید

استناد: حسین زاده، ندا و پیرزاد، علیرضا (۱۴۰۳). پاسخ بیوشیمیایی و جذب عناصر غذایی لوبیا چیتی به هیومیک اسید و منابع فسفر (بیولوژیک و شیمیایی) در شرایط کم آبیاری. به زراعی کشاورزی، ۲۶ (۴)، ۸۰۵-۸۲۴. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2024.365576.2856>



۱. مقدمه

لوبیا، یک محصول جهانی با تولید حدود ۲۸ میلیون تن در سال است که هند، برزیل و چین از تولیدکنندگان اصلی این محصول هستند (فائو^۲، ۲۰۲۲). لوبیا را در مناطق معتدل و سردسیر در طی فصول گرم می‌توان کشت کرد. کشت گیاه لوبیا در ایران به صورت کشت بهاره است و بنابراین محدودیتی از لحاظ اقلیمی برای آن وجود ندارد (حیات^۳ و همکاران). ترکیبات فنلی، لیگنین‌ها، لکتین‌ها و مهارکننده‌های تریپسین، و هم‌چنین فیتات‌ها، تانن‌ها، پروتئازها، مهارکننده‌های α-آمیلاز، ساپونین‌های موجود در لوبیا دارای خواص محافظتی قوی در برابر شرایط استرس هستند (دوریا^۴ و همکاران، ۲۰۱۲).

در شرایط تنش آبی، گیاهان با تنظیمات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی با هدف مقابله با اتلاف آب با تلاش برای حفظ وضعیت خود پاسخ می‌دهند (صالحی-لیثا^۵ و بخشایشان-اقدام^۶، ۲۰۱۶) که در این شرایط، گیاهان باید به سرعت پاسخ دهند، بنابراین عملاً تمام عملکردهای بیولوژیکی توسط شرایط کمبود آب در سطح کل گیاه تغییر پیدا می‌کند (کلگر^۷ و سفر^۸، ۲۰۱۷). گیاهان باید استراتژی‌های مختلفی را ایجاد کنند که به آن‌ها برای جذب آب از طریق ریشه‌هایشان و حفظ فشار آسما سلولی و اجتناب از اتلاف آب کمک کند (گیلفوس^۹، ۲۰۱۹). شرایط تنش خشکی هم‌چنین منجر به افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و گونه‌های نیتروژن فعال می‌شود که عملکرد تنظیمی اکسید-احیا سلولی را مختل می‌کند (شارما^{۱۰} و همکاران، ۲۰۲۰؛ لاکسا^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۹). یک سیستم آنتی‌اکسیدانتی سریع، قدرتمند و کارآمد برای ارائه تحمل به خشکی اهمیت اساسی دارد (حسین^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۹). شرایط کمبود آب معمولاً دسترسی کلی ریشه گیاه به مواد مغذی خاک، جابه‌جایی مواد مغذی ریشه و در نهایت کاهش محتوای یون در بافت‌های مختلف گیاهی را کاهش می‌دهد (خرادم^{۱۳} و همکاران، ۲۰۱۴).

۲. پیشینه پژوهش

در سطح بیوشیمیایی، تجمع اسمولیت‌ها برای تنظیم اسمزی در برابر شرایط کمبود آب ضروری است (سولانکی^{۱۴} و سارانگی^{۱۵}، ۲۰۱۴). تجمع پرولین با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها با دفاع از پتانسیل اکسید-احیای سلولی و کاهش سطح گونه‌های اکسیژن فعال به حفظ یکپارچگی غشا کمک می‌کند (شینده^{۱۶} و همکاران، ۲۰۱۶؛ حسینی‌فرد^{۱۷} و همکاران، ۲۰۲۲). ژنوتیپ‌هایی که سطح بالاتری از گلیسین بتائین (ژانگ^{۱۸} و همکاران، ۲۰۰۸)، مانیتول و سایر کربوهیدرات‌های غیرساختاری را انباشته می‌کنند، تحمل به خشکی بیش‌تری دارند (ابراهیم^{۱۹} و عبداللطیف^{۲۰}، ۲۰۱۹؛ خاطر^{۲۱} و همکاران، ۲۰۱۸).

1. *Phaseolus vulgaris* L.
2. FAO
3. Hayat
4. Doria
5. Salehi-Lisar
6. Bakhshayeshan-Agdam
7. Kögler
8. Söffker
9. Geilfus
10. Sharma
11. Laxa
12. Hussain
13. Kheradm
14. Solanki
15. Sarangi
16. Shinde
17. Hosseinifard
18. Zhang
19. Ibrahim
20. Abdellatif
21. Khater

مواد هیومیکی به‌طور عمده بر روی فراهمی زیستی مواد مغذی از طریق توانایی آن‌ها برای تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی تأثیر می‌گذارند که در دسترس بودن درشت مغذی‌ها (فسفر) و ریزمغذی‌ها (روی، منگنز، مس و آهن) را افزایش می‌دهند. به‌ویژه زمانی که این مواد مغذی در خاک کمیاب هستند (گاریسیا^۱ و همکاران، ۲۰۱۶). فعالیت آکوپورین و جذب آب توسط ریشه توسط غلظت ریزوسفری مواد هیومیکی کنترل می‌شود (شاه^۲ و همکاران، ۲۰۱۸). هیومیک‌اسید با اسیدی کردن خاک سبب تسهیل انحلال پتاسیم شده و میزان دسترسی به عناصر غذایی را افزایش می‌دهد (آیدین^۳ و همکاران، ۲۰۱۲؛ مگانید^۴ و همکاران، ۲۰۱۵). مصرف هیومیک‌اسید از طریق افزایش سطوح برگی و فعالیت فتوسنتزی سبب بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه لوبیا شده است (الخطیب^۵ و همکاران، ۲۰۲۰).

کاربرد کودهای زیستی به‌ویژه در شرایط کم‌آبی با بهبود رشد ریشه و افزایش آسیمیلایون مواد فتوسنتزی به‌علت افزایش سطح برگ و افزایش ظرفیت فتوسنتزی در دوره قبل از گلدهی، می‌تواند در مرحله پس از گلدهی با انتقال دوباره این مواد فتوسنتزی از منبع به مخزن، وزن هزاردانه را بهبود ببخشد (ساریخانی و امینی، ۱۳۹۹). کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات در گیاه کتان^۶ به‌طور قابل توجهی سبب افزایش در جذب عناصر غذایی، افزایش در رشد گیاه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و تعداد اسپور در خاک را به‌دنبال داشته است (رحیم زاده^۷ و پیرزاد^۸، ۲۰۱۷).

با توجه به این‌که ایران دارای آب و هوایی خشک و نیمه خشک است و گیاهان با تنش خشکی روبه‌رو می‌شوند بنابراین استفاده از موادی که بتواند اثرات مضر تنش را در گیاهان کاهش دهد و هم‌چنین دارای سازگاری با محیط زیست باشد، بسیار ضروری می‌باشد. بر همین اساس پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر هیومیک‌اسید و فراهمی میزان فسفر و جایگزین کودهای شیمیایی در گیاه لوبیا چیتی، از جنبه پاسخ فیزیولوژیک انجام گرفت.

۳. روش‌شناسی پژوهش

پژوهش انجام‌شده در سال زراعی ۱۳۹۹ در شهرستان مشگین‌شهر روستای آقبلاغ با عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۲۱ دقیقه و ۳۱ ثانیه عرض شمالی و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۳۹ دقیقه و ۵۳ ثانیه طول شرقی انجام شد. این آزمایش به‌منظور ارزیابی و بررسی تأثیر هیومیک‌اسید بر کارایی فسفر بیولوژیک و جایگزینی کود شیمیایی در شرایط کم‌آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژیک لوبیا چیتی، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. آبیاری در دو سطح (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی با آب مصرفی ۵۵۰۰ مترمکعب در هکتار) و کم‌آبیاری (۷۰ درصد ظرفیت زراعی با آب مصرفی ۳۵۰۰ مترمکعب در هکتار) به‌عنوان فاکتور اول و کاربرد منابع مختلف کودی در شش سطح (کود شیمیایی فسفات به‌عنوان شاهد، کود زیستی فسفات بارور ۲، نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ (۱۰۰ گرم در هکتار)، کود شیمیایی فسفات (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) + هیومیک‌اسید، کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک‌اسید (۱۰ لیتر در هکتار) و نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک‌اسید) بود. کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل و هیومیک‌اسید (شرکت خرم بهار آتیس) در زمان تهیه زمین و قبل از کاشت به خاک اضافه شدند. قبل از کاشت، بذرها با کود زیستی (فسفات بارور ۲، حاوی ۱۰^۷ تا ۱۰^۸ باکتری حل‌کننده فسفات (*Pantoea agglomerans* سویه P5 و *Pseudomonas putida* سویه P13 تهیه‌شده

1. García
2. Shah
3. Aydin
4. Meganid
5. Elkhatib
6. *Linum usitatissimum*
7. Rahimzadeh
8. Pirzad

از شرکت زیست‌فناور سبز) بذرمال شدند و بلافاصله کاشته شدند (باقریور و همکاران، ۱۴۰۳). آبیاری در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (اضافه کردن آب آبیاری تا زمانی که رطوبت خاک به ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی برسد) به‌عنوان شاهد و آبیاری مطلوب می‌باشد. کم‌آبیاری اضافه کردن ۷۰ درصد مقدار آب استفاده شده در تیمار شاهد می‌باشد. تیمارهای آبیاری پس از کاشت (از اولین آبیاری) اعمال شدند. آب مصرفی توسط کنتور اندازه‌گیری شد. هر کرت دارای پنج ردیف کاشت به طول چهار متر و فاصله بین ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر، که بذرها لوبیا چیتی توده بومی مشکین‌شهر، به‌صورت کپه‌ای در عمق دو سانتی‌متری و به تعداد سه بذر کشت شدند. کلیه مراقبت‌های زراعی شامل کنترل علف‌های هرز (از مرحله دو برگگی که گیاهان تنک شدند و جین علف هرز هم انجام شد) در مورد تیمارها به‌صورت یکنواخت انجام گرفت. آفت و بیماری در بوته‌های لوبیا چیتی مشاهده نشد. پس از رسیدگی کامل در مرحله R9 (قنبری و بیضایی، ۱۳۸۶)، برداشت محصول تمامی تیمارهای آزمایشی به‌طور جداگانه انجام، و عملکرد هر یک از تیمارها از ۱۰ بوته (معادل ۰/۳۳ مترمربع) توسط ترازوی دیجیتال (METTLER, PJ300) و با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند.

به‌منظور بررسی تأثیر تنش خشکی و هیومیک‌اسید بر ویژگی‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی، دو هفته بعد از اتمام تیمارها نمونه‌برداری تصادفی از برگ‌ها تا تاریخ ۱۵ شهریور شروع شد و بلافاصله نمونه‌ها در فویل آلومینیومی بسته‌بندی و در ازلت مایع منجمد شدند و سپس به فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی منتقل شدند. برای اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچنتالر^۱ (۱۹۸۷) و استون ۸۰ درصد استفاده شد. جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (UV-2100 China) قرائت شد.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوی پرولین از ۰/۵ گرم بافت تازه برگگی استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر انجام شد (پاکوبین^۲ و لچاسسور^۳، ۱۹۷۹). به‌منظور اندازه‌گیری میزان گلاسیسین بتائن ۲۵ گرم از بافت خشک گیاهی استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت شد، میزان گلاسیسین بتائن برحسب میکرومول بر گرم وزن خشک گزارش شد (گریو^۴ و گراتان^۵، ۱۹۸۳). برای اندازه‌گیری قند محلول، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی نگهداری شده در یخچال استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (ایریگوین^۶ و همکاران، ۱۹۹۲). برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید، ابتدا ۰/۲ گرم گلبرگ با ۵ سی‌سی تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۱ درصد ساییده شده و بعد عصاره گیاهی به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور سانتی‌فیوژ شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۰۰ و ۵۳۲ نانومتر قرائت گردیدند و با رابطه (۱) محاسبه شدند و برحسب میکرومول بر گرم وزن تر بیان شدند (هورث^۷ و چاکماک^۸، ۱۹۹۱).

رابطه (۱) $MDA (\mu\text{mol/g FW}) = (A532 - A600 / 155) * 100$

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها ابتدا عصاره گیاهی تهیه شد و برای تهیه عصاره گیاهی از روش کانگ^۹ و سالتویت^{۱۰} (۲۰۰۲) تهیه گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش ایبی^{۱۱} (۱۹۸۴) تعیین شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به‌صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد.

1. Lichtenthaler
2. Paquin
3. Lechasseur
4. Grieve
5. Grattan
6. Irigoyen
7. Horst
8. Cakmak
9. Kang
10. Saltveit
11. Aebi

محلول واکنش به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز شامل ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره که دارای ۵۰ میلی‌گرم پروتئین بود (این مقدار با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید). میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برحسب تغییرات جذب نور در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد (روونی^۱، ۱۹۹۵). تعیین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از طریق توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلرید با تغییرات جزئی از روش دیندسا^۲ و همکاران (۱۹۸۱) انجام گرفت.

اندازه‌گیری میزان فسفر به‌روش کالریمتری (رنگ زرد مولبیدات وانادات) به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-2100 China) در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام شد (اوهایاما^۳ و همکاران، ۱۹۹۱). برای اندازه‌گیری میزان پتاسیم توسط دستگاه شعله‌سنج (فلیم‌فوتومتر^۴، فاطر ۴۰۵) انجام شد (میزوکوشی^۵ و همکاران، ۱۹۹۴). اندازه‌گیری نیتروژن به‌روش کج‌دال دارای مراحل هضم، تقطیر و تیتراسیون می‌باشد (اوهایاما^۶ و همکاران، ۱۹۹۱). از رابطه (۲) میزان نیتروژن محاسبه گردید.

$$\text{رابطه (۲)} = \frac{100 \times (\text{حجم کل عصاره} \times \text{جرم مولکولی نیتروژن} \times \text{نرمالیتت اسید مصرفی} \times \text{حجم اسید مصرفی})}{1000 \times \text{وزن پودر برگ} \times \text{محلول هضم استفاده شده در تقطیر}} = \text{درصد نیتروژن برگ}$$

قبل از تجزیه واریانس، نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف تأیید گردید. برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات موردبررسی، از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

۴. یافته‌های پژوهش

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده کم‌آبیاری و تیمار کودی و هم‌چنین اثرات متقابل کم‌آبیاری × منابع کودی بر عملکرد دانه، کلروفیل (a، b، کل)، سوپراکسیددیسموتاز، فسفر و پتاسیم برگ لوبیا معنی‌دار بود. کاروتنوئید، قند محلول کل، گلاسیسین بتائین، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ لوبیا تحت تأثیر کم‌آبیاری و منابع کودی قرار نگرفتند. اثرات ساده کم‌آبیاری و منابع کودی بر مالون‌دی‌آلدهید، نیتروژن برگ تأثیر معنی‌دار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس شاخص‌های بیوشیمیایی و جذب عناصر غذایی گیاه لوبیا چیتی در اثر تیمار کودی تحت شرایط کم‌آبیاری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		عملکرد دانه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	قند محلول
کم‌آبیاری	۱	۱۵۵/۵**	۵/۲۷*	۱۶/۱۱**	۱/۴۸**	۱/۵۵**	۱/۱۹**
منبع کودی	۵	۵۳/۰۷**	۱۱/۲۲**	۲/۷۷**	۱۳/۷۶**	۱/۱۸**	۰/۲۱**
کم‌آبیاری × منبع کودی	۵	۸۵/۷۳**	۷/۶۸**	۳/۰۳**	۴/۷۶*	۱/۱۳**	۰/۱۱**
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۷۰	۱/۰۳	۰/۵۳	۱/۳۳	۰/۶۷	۰/۷۷
ضریب‌تغییرات (درصد)		۱۲/۵۱	۸/۶۵	۱۳/۵۲	۷/۹	۱۸/۲۱	۲۰/۴۳
		۱۶/۱۲	۷/۰۷				

ns و ** : به‌ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشند.

1. Reuveni
2. Dhindsa
3. Ohayama
4. Flame photometer
5. Mizukoshi
6. Ohayama

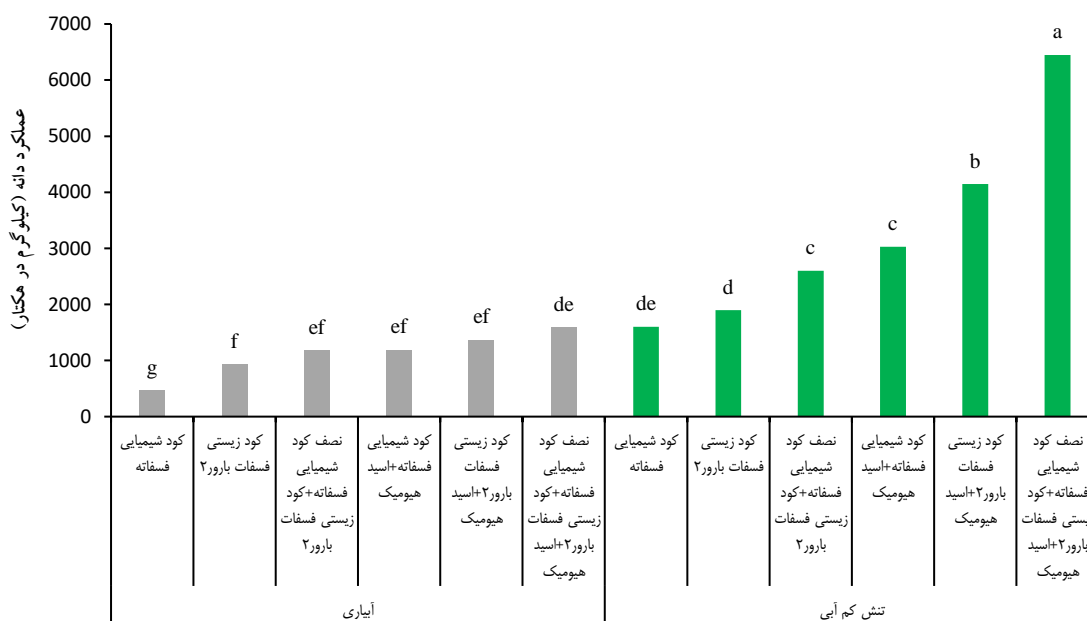
ادامه جدول ۱. تجزیه واریانس شاخص‌های بیوشیمیایی و جذب عناصر غذایی گیاه لوبیا چیتی در اثر تیمار کودی تحت شرایط کم‌آبیاری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		آنزیم کاتالاز	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز	نیتروزن	فسفر
کم‌آبیاری	۱	۰/۰۰۲۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۴۶ ^{ns}	۹/۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۵۰ ^{**}
منبع کودی	۵	۰/۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۴۲ ^{**}	۴/۲۴ ^{**}	۰/۰۰۰۳۰ ^{**}
کم‌آبیاری × منبع کودی	۵	۰/۰۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۱۴ ^{**}	۱/۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۲۷ ^{**}
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۰۰۰۶۳	۰/۰۰۲	۰/۷۷	۰/۰۰۰۰۳۱
ضریب تغییرات (درصد)		۱۶/۹۱	۷/۶۹	۱۹/۱۲	۵/۹۸
		۵/۸۹			

ns و **: به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشند.

۱.۴. عملکرد دانه

در تیمار آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، بین اکثر تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در افزایش وزن دانه مشاهده نشد، اما در کم‌آبیاری مشاهده شد که اعمال تنش و تیمار کودی منجر به افزایش وزن دانه گردید، به طوری که بیش‌ترین عملکرد دانه (۶۴۴۸/۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به کم‌آبیاری و تیمار کودی "نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک/اسید" بود. کم‌ترین عملکرد دانه (۴۶۵/۳ کیلوگرم در هکتار) در تیمار "کود شیمیایی فسفات" و آبیاری کامل مشاهده شد. عملکرد دانه در کود شیمیایی فسفات (۸۶۱/۳)، کود زیستی فسفات بارور ۲ (۹۱۰/۸)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۹۶۶/۹)، کود شیمیایی فسفات+ هیومیک/اسید (۲۰۷۵/۷) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک/اسید (۳۱۱۸/۵) کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه میانگین‌های عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشند.

۲.۴. کلروفیل

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تیمار آبیاری کامل، کاربرد "نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات

بارور ۲+ هیومیک‌اسید دارای بیش‌ترین میزان کلروفیل a (۱۵/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود که با تیمار کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید اختلاف معنی‌داری نداشت. در کم‌آبیاری مشاهده شد که اعمال تنش و تیمار کودی منجر به افزایش کلروفیل a گردید، به‌طوری‌که بیش‌ترین کلروفیل a در کم‌آبیاری (۱۱/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و "صف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید مشاهده شد (شکل ۲).

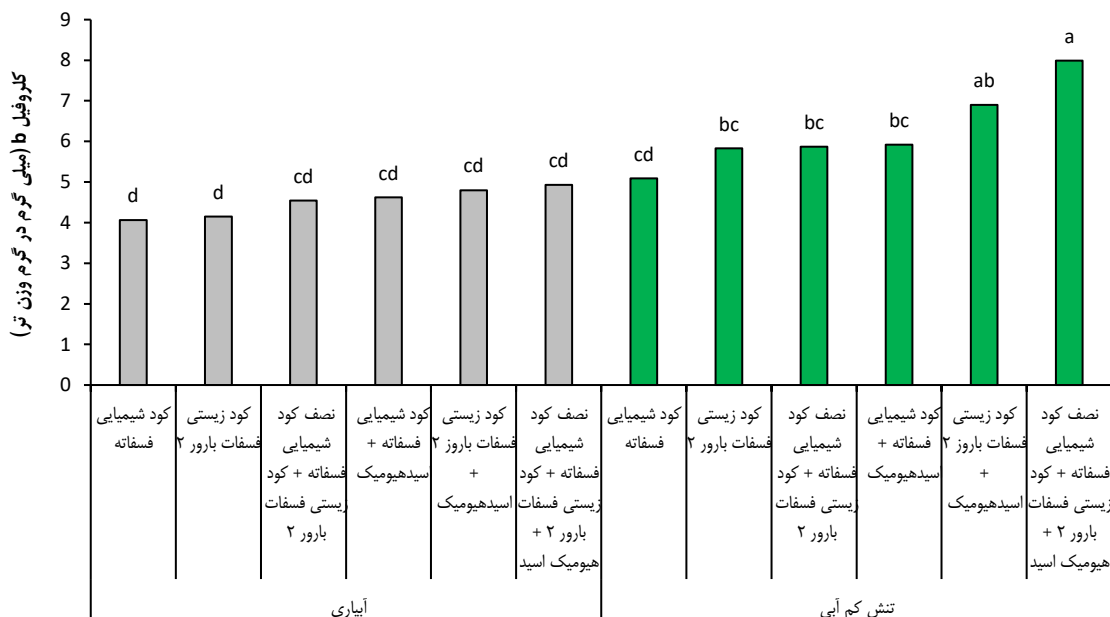
در تیمار آبیاری کامل، بین اکثر تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در افزایش کلروفیل b مشاهده نشد، اما در کم‌آبیاری اعمال تنش و تیمار کودی منجر به افزایش کلروفیل b گردید. به‌طوری‌که بیش‌ترین کلروفیل b (۷/۹۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) با کاربرد "نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید مشاهده شد. کم‌ترین میزان کلروفیل b (۴/۰۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار "کود شیمیایی فسفات" و آبیاری کامل به‌دست آمد (شکل ۳).

میزان کلروفیل کل در تیمار بدون آبیاری تنها در منبع کودی نصف کود شیمیایی "فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید" اختلاف معنی‌داری با سایر منابع کودی داشت. تیمار کم‌آبیاری، منجر به افزایش کلروفیل کل گردید. در شرایط آبیاری کامل میزان کلروفیل کل در کود شیمیایی فسفات (۱۵/۶۷)، زیستی فسفات بارور ۲ (۱۶/۳۵)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۱۶/۸) کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید (۱۷/۶۶) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۱۸/۹۶) بود و در شرایط کم‌آبیاری میزان کلروفیل کل در کود شیمیایی فسفات (۱۴/۲۳)، زیستی فسفات بارور ۲ (۱۵/۹)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۱۶/۱۶)، کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید (۱۶/۴۸) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۱۷/۸۹) میلی‌گرم در گرم وزن تر بود (شکل ۴).



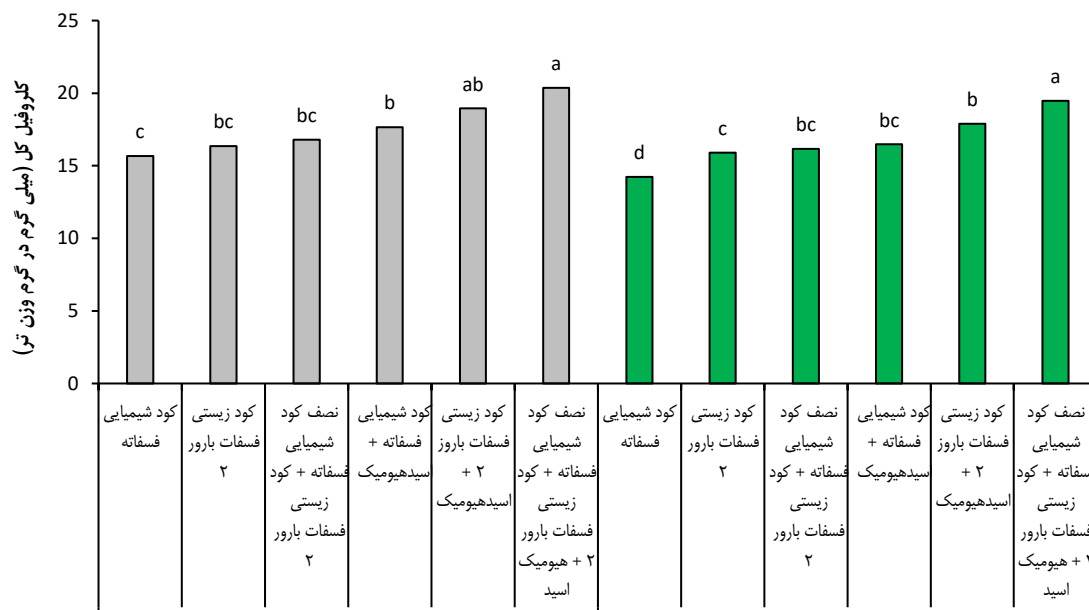
شکل ۲. مقایسه میانگین‌های کلروفیل a لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی.

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۳. مقایسه میانگین‌های کلروفیل b لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی.

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.



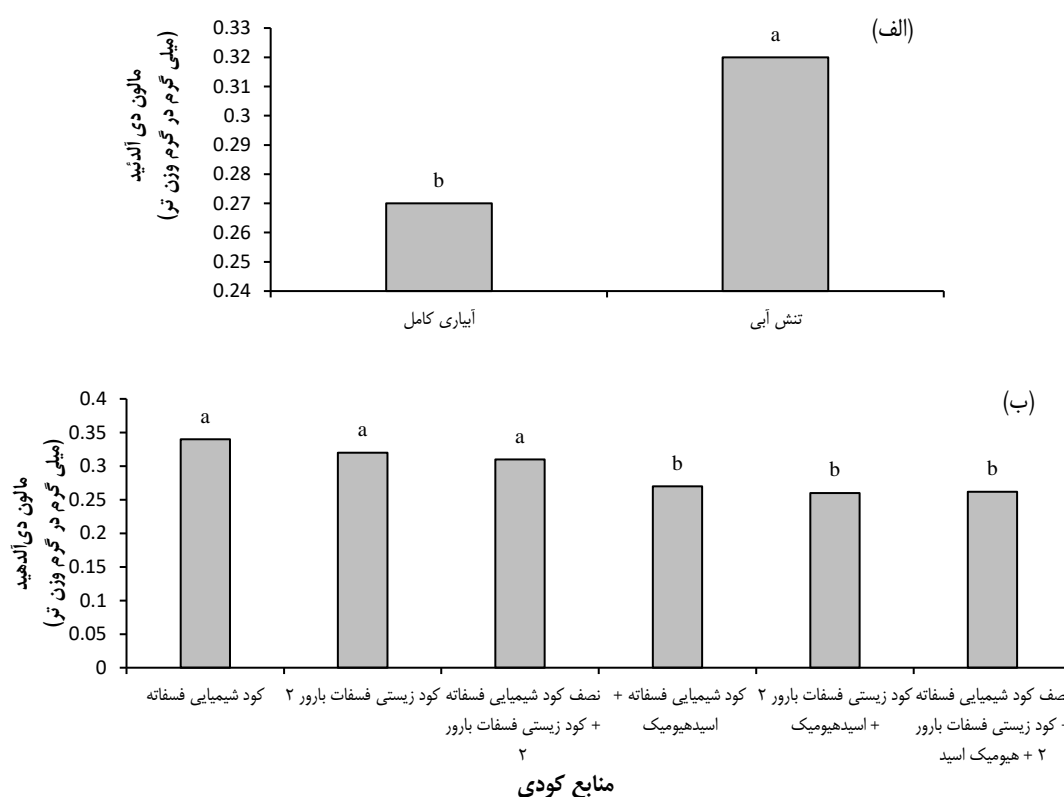
شکل ۴. مقایسه میانگین‌های کلروفیل کل لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی.

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

۳.۴. شاخص‌های بیوشیمیایی

کاروتنوئید، قند محلول کل، گلاسیسین بتائین، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ لوبیا تحت تأثیر کم‌آبیاری و منابع کودی قرار نگرفتند (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که کم‌آبیاری (تنش ملایم) منجر به افزایش مالون‌دی‌آلدید

شد که میزان آن ۰/۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر بود (شکل ۵-الف). کاربرد "نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید منجر به کاهش قابل‌توجهی در میزان مالون‌دی‌آلدهید شد هرچند که با تیمارهای "کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید" و هم‌چنین "کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید" اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت (شکل ۵-ب). اگرچه کاربرد منابع کودی منجر به افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد اما در تیمار آبیاری کامل، بین اکثر تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشاهده نشد. در تیمار کم‌آبیاری مشاهده شد که اعمال تنش جزئی و تیمار کودی منجر به افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گردید به‌طوری‌که بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (۰/۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار کم‌آبیاری و "نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید مشاهده شد. کم‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (۰/۴۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید مشاهده شد. در رابطه با سایر منابع کودی مشخص شد که در شرایط آبیاری کامل میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در کود شیمیایی فسفات (۰/۴۹)، زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۵۳)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۶۵) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۰/۶۷) میلی‌گرم در گرم وزن تر بود، و در شرایط کم‌آبیاری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در کود شیمیایی فسفات (۰/۶۸)، زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۶۹)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۷۳)، کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید (۰/۷۴) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۰/۷۷) میلی‌گرم در گرم وزن تر بود (شکل ۶).



شکل ۵. مقایسه میانگین‌های میزان مالون‌دی‌آلدهید در گیاه لوبیا چیتی تحت تأثیر تیمار کم‌آبیاری (الف) و منابع کودی (ب). حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

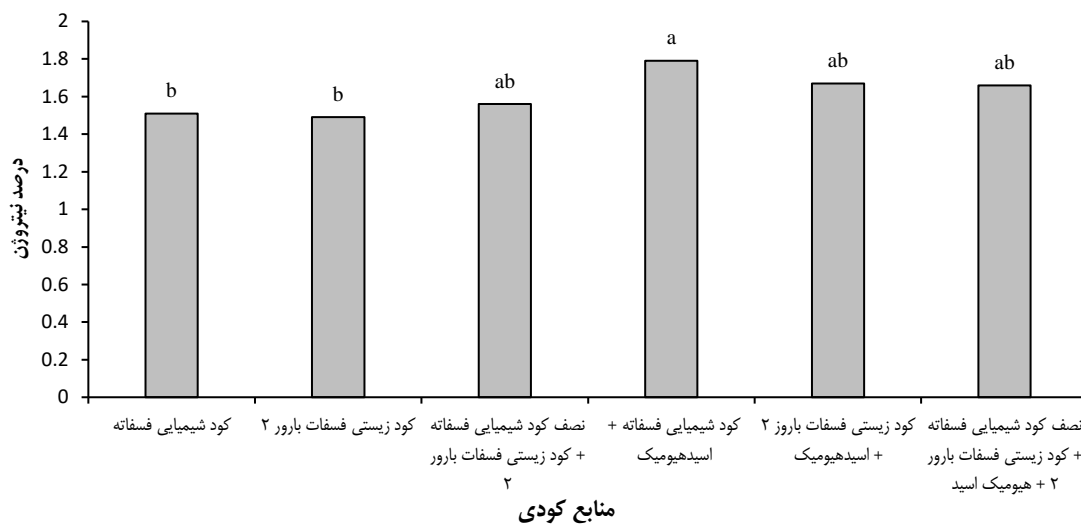


شکل ۶. مقایسه میانگین‌های میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

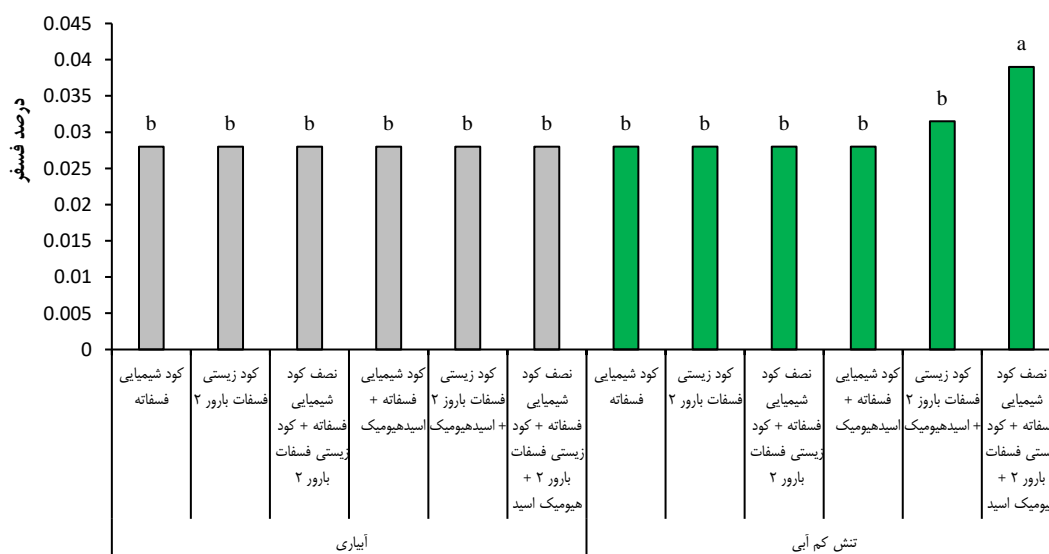
۴.۴. عناصر غذایی

تیمار کودی منجر به افزایش نیتروژن برگ‌گردید، اگر چه بین اکثر تیمارها اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد، بیش‌ترین جذب نیتروژن (۱/۷۹ درصد) در تیمار "کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید" مشاهده شد. کم‌ترین میزان نیتروژن (۱/۴۹ درصد) در تیمار کود زیستی فسفات بارور ۲ و آبیاری کامل مشاهده شد که با تیمار کود شیمیایی فسفات اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت. در رابطه با سایر منابع کودی مشخص شد که میزان نیتروژن در کود شیمیایی فسفات (۱/۵۱)، زیستی فسفات بارور ۲ (۱/۴۹)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۱/۵۶)، کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید (۱/۷۹) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۱/۶۷) درصد بود (شکل ۷). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنها تیمار نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در گیاهان بدون تنش و کم‌آبیاری ایجاد کنند، در این تیمار میزان فسفر برگ ۰/۳۹ درصد بود (شکل ۸). در رابطه با سایر منابع کودی مشخص شد که در شرایط آبیاری کامل میزان فسفر در کود شیمیایی فسفات (۰/۰۲۸)، زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۰۲۸)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۰۲۸)، کود شیمیایی فسفات+ هیومیک‌اسید (۰/۰۲۸) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۰/۰۲۸) درصد بود و در شرایط کم‌آبیاری میزان فسفر در کود شیمیایی فسفات (۰/۰۲۸)، کود زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۰۲۸)، نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲ (۰/۰۲۸) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۰/۰۲۸) و کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید (۰/۰۲۸) درصد بود (شکل ۸).

میزان پتاسیم برگی در تیمار کم‌آبیاری روندی افزایشی نشان داد و بیش‌ترین میزان پتاسیم در گیاهانی که کامل آبیاری شده بودند، و تیمار "نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک‌اسید مشاهده شد. در تیمار کم‌آبیاری، کاربرد منابع کودی منجر به افزایش جذب پتاسیم گردید و بیش‌ترین میزان جذب پتاسیم (۰/۴۳ درصد) در تیمار نصف کود شیمیایی فسفات + کود زیستی فسفات بارور ۲ + هیومیک‌اسید به‌دست آمد، اگرچه با سایر منابع کودی اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت (شکل ۹).



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر ساده تیمارهای کودی بر میزان جذب عنصر نیتروژن در گیاه لوبیا چیتی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۸. مقایسه میانگین‌های جذب عنصر فسفر لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۹. مقایسه میانگین‌های جذب عنصر پتاسیم لوبیا چیتی مربوط به اثرات متقابل کم‌آبیاری و منابع کودی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

۵. بحث

در تأیید نتایج پژوهش حاضر، آرمند و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که تنش ملایم خشکی نسبت به آبیاری مطلوب، تأثیر معنی‌داری بر صفات مرتبط با عملکرد نداشت و در مواردی برخی صفات و عملکرد گیاه لوبیا را بهبود بخشید. دست‌نشان و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند که در ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا در شرایط تنش ملایم خشکی، مشابه شرایط آزمایش حاضر، گیاهان با حفظ محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت پایین در برخی ارقام، و حتی افزایش معنی‌دار سبزیگی برگ (SPAD) در همه ارقام مورد مطالعه و تغییرات خیلی کم دمای برگ، شدت فتوستنز را در سطح مطلوب نگه داشته‌اند. این امر منجر به تولید عملکرد برابر و در مواردی بیشتر نسبت به آبیاری کامل (آرمند و همکاران، ۱۳۹۴) می‌شود. پاسخ‌های بیوشیمیایی لوبیا در تنش ملایم خشکی مانند سطوح پایین پرولین و قندهای محلول برگ، فعالیت پراکسیداز و فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز، مقادیر بالای شاخص پایداری غشا و مقادیر بالای محتوای نسبی آب برگ و مقاومت پایین روزنه‌ای، مشابه شاهد بدون تنش می‌باشند (راستی ثانی^۱ و همکاران، ۲۰۱۸). تنش آبی در گیاهان منجر به ایجاد پاسخ سریع از طرف گیاه می‌شود، در واقع عملاً تمام عملکردهای بیولوژیکی توسط شرایط کمبود آب در سطح کل گیاه تغییر پیدا می‌کند (کلگر^۲ و سفلی^۳، ۲۰۱۷). وجود مواد هیومیکی در خاک با بهبود تغذیه معدنی زیر سطح خاک منجر به تحریک رشد ریشه و اندام هوایی می‌شود. فعالیت این مواد را می‌توان از نظر عملکرد و رشد فعال گیاهان ارزیابی کرد (زاندونادی^۴ و همکاران، ۲۰۱۶). کود فسفر با اثرات مثبتی که بر افزایش طول ریشه دارد، میزان جذب نیتروژن را در گیاه

1. Rasti Sani
2. Kögler
3. Söffker
4. Zandonadi

افزایش می‌دهد (عباسی سیه‌جانی و همکاران، ۱۳۹۶). هم‌چنین گزارش شده است که باعث افزایش سودمندی نیتروژن می‌شود که در نتیجه آن رشدونمو بخش رویشی گیاه نیز افزایش می‌یابد (الهرات^۱ و همکاران، ۲۰۱۶). با توجه به این که فسفر نقش مهمی در فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان مانند فتوسنتز، تبدیل قند به نشاسته و انتقال خصوصیات ژنتیکی ایفا می‌کند، افزایش جذب فسفر و انتقال آن به سلول‌های گیاه، سبب بهبود رشد و افزایش فتوسنتز و تولید مواد فتوسنتزی می‌شود (مورا^۲ و همکاران، ۲۰۱۴).

یکی از پیامدهای اصلی کمبود آب در گیاهان کاهش فرایند فتوسنتز است. در این میان، کاهش فرایند فتوسنتزی در گیاهان تحت خشکی به‌طور عمده به کاهش دریافت CO₂ از طریق روزنه‌ها مربوط می‌شود (سیچر^۳ و بامبی^۴، ۲۰۲۰) که در شرایط آزمایش حاضر با اعمال تنش ملایم خشکی (آبیاری با ۷۰ درصد آب آبیاری کامل)، اثرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی (کاروتنوئید برگ، میزان قند محلول، گلاسیسین بتائین و فعالیت آنزیم کاتالاز) و مورفولوژیک غیرمعنی‌دار و در بیش‌تر موارد بهبود نسبت به آبیاری کامل نشان دادند (راستی ثانی^۵ و همکاران، ۲۰۱۸) که احتمالاً دلیل آن تأمین تهویه مناسب خاک و در اختیار قراردادن آب در محدوده سهل‌الوصول برای ریشه گیاه می‌باشد (دست‌نشان و همکاران، ۱۳۹۸؛ آرمند و همکاران، ۱۳۹۴). احتمالاً کاربرد کودهای زیستی تحت شرایط کم‌آبی، میزان جذب نیتروژن در گیاه را بهبود بخشیده و از این طریق سبب افزایش رشد، نمو و مقدار کلروفیل برگ و متعاقب آن، افزایش میزان فتوسنتز و ماده‌سازی و در نهایت، افزایش عملکرد زیستی گیاه شده باشد (سیه‌جانی^۶ و همکاران، ۲۰۲۰). نظر می‌رسد با کاربرد کود فسفات بارور^۲، میزان جذب نیتروژن توسط گیاه افزایش یافته و نیتروژن، میزان صفت مزبور نیز بهبود یافته است. به‌علت ارتباط مستقیم کلروفیل با غلظت از آنجا که نیتروژن نقشی اساسی در ساختار و ساختمان رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل دارد، بدیهی است که با افزایش میزان نیتروژن، میزان این رنگیزه‌ها افزایش یابند (زوبیلاگا^۷ و همکاران، ۲۰۰۶). بالابودن میزان کلروفیل با کاربرد کود شیمیایی فسفات، به‌علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان کوددهی شده باشد (انصاری^۸ و همکاران، ۲۰۱۵؛ زارع^۹ و همکاران، ۲۰۱۳).

مواد هیومیکی دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر گیاهان هستند یکی از اثرات مستقیم هیومیک اسید بر رشد گیاهان شامل افزایش محتوای کلروفیل، افزایش میزان تنفس، افزایش میزان هورمون‌های رشد گیاهی و افزایش نفوذپذیری غشای گیاهان می‌باشد (جارینه^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۸). افزایش محتوای کلروفیل کل برگ می‌تواند به دلیل سرعت جذب نیتروژن و نیترات، افزایش متابولیسم نیتروژن و تولید پروتون به‌وسیله مواد هیومیکی و در نهایت افزایش محتوای کلروفیل باشد (حقیقی^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۲). از دیگر نقش‌های مواد هیومیکی که منجر به افزایش محتوای کلروفیل می‌شود، می‌توان به افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، جذب اکسیژن، تنفس و فتوسنتز، جذب فسفات و طولی شدن ریشه‌ها اشاره کرد (خان^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۲؛ مگانید^{۱۳} و همکاران، ۲۰۱۵).

1. Alhrout
2. Mora
3. Sicher
4. Barnaby
5. Rasti Sani
6. Seyahjani
7. Zubillaga
8. Ansari
9. Zarea
10. Jariene
11. Haghighi
12. Khan
13. Meganid

در اثر تنش خشکی، پراکسیداسیون گلیکولیپیدهای تیلاکوئید کلروپلاستی و به دنبال آن تولید دی‌آسیل‌گلیسرول، تری‌آسیل‌گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد رخ می‌دهد در نتیجه میزان مالون‌دی‌آلدهید در بافت گیاهی افزایش پیدا می‌کند (لو^۱ و همکاران، ۲۰۱۰). در مواد هیومیکی بهینه‌سازی شرایط رشد گیاه و تأمین آب، مواد مغذی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه می‌تواند به جلوگیری از تنش‌های غیرزیستی کمک کند (گاریسیا^۲ و همکاران، ۲۰۱۴). گزارش شده است که کاربرد مواد هیومیکی در شرایط تنش شوری باعث افزایش محتوای پرولین و کاهش مالون‌دی‌آلدهید و تولید گونه‌های اکسیژن فعال در لوبیا معمولی می‌شود که منعکس‌کننده سازگاری بهتر با شرایط شور است (آیدین^۳ و همکاران، ۲۰۱۲).

بیش‌تر سیستم دفاعی گیاه به مقابله با پیامدهای ناشی از خشکی به گونه‌های اکسیژن فعال اختصاص دارد. در این زمینه، یک سیستم آنتی‌اکسیدانی سریع، قدرتمند و کارآمد برای ارائه تحمل به خشکی اهمیت اساسی دارد (حسین^۴ و همکاران، ۲۰۱۹). این دستگاه شامل بخش‌های سمیت‌زدایی آنزیمی و غیرآنزیمی است که آسیب ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش داده و منجر به مقاومت و تحمل گیاه می‌شود. تقویت دستگاه آنتی‌اکسیدانی به مهار گونه‌های اکسیژن فعال کمک می‌کند که نشأت الکترولیت و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد، بنابراین حیات و یکپارچگی اندامک‌ها و غشای سلولی را حفظ می‌کند (قریبی^۵ و همکاران، ۲۰۱۶). کاربرد کودهای زیستی در طی دوره تنش خشکی منجر به افزایش پتانسیل آب برگ، افزایش سرعت مصرف دی‌اکسیدکربن و افزایش میزان تعرق و نیز از طریق تولید محرک‌های رشد و سیدروفورها سبب رشد و توسعه ریشه و افزایش سطح جذب آب می‌شوند لذا این کودها قادرند اثرات تنش کم‌آبی در گیاه را کاهش داده و سبب افزایش عملکرد گیاه لوبیا شوند (عباسی سیه‌جانی و همکاران، ۱۳۹۶). از طریق تولید محرک‌های رشد و سیدروفورها سبب رشد و توسعه ریشه و افزایش سطح جذب آب می‌شود (عباسی سیه‌جانی و همکاران، ۱۳۹۶). به نظر می‌رسد که توسعه ریشه منجر به فراهم‌شدن آب برای گیاه می‌شود و بنابراین گیاه می‌تواند از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با تنش خشکی مقابله کند. لذا می‌توان اظهار داشت که احتمالاً که می‌تواند دلیل افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پژوهش حاضر نیز باشد. در پژوهش حاضر نیز تیمار کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی بیش‌ترین تأثیر را در تعدیل اثرات تنش خشکی بر گیاه لوبیا چیتی داشته و در نتیجه تولید و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که مهم‌ترین آنزیم در فرایند حذف و خنثی‌سازی رادیکال‌های سوپراکسید است (سانچز-رودریگز^۶ و همکاران، ۲۰۱۰) را افزایش داده است. به‌طور کلی می‌توان بیان نمود که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کلیدی در کنترل کردن این رادیکال‌ها و پراکسیدها در سطح سلولی دارد (اپل^۷ و همکاران، ۲۰۱۴).

در پژوهش حاضر اعمال تنش منجر به کاهش جذب عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر گردید، شرایط کمبود آب معمولاً دسترسی کلی ریشه گیاه به مواد مغذی خاک، جابه‌جایی مواد مغذی ریشه و در نهایت کاهش محتوای یون در بافت‌های مختلف گیاهی منجر می‌شود (خرادم^۸ و همکاران، ۲۰۱۴). شرایط کمبود آب باعث کاهش جذب پتاسیم گیاه می‌گردد (هو^۹ و اشمیدهالتر^{۱۰}، ۲۰۰۵). این کاهش در پتاسیم به کاهش تحرک پتاسیم، کاهش سرعت تعرق و عملکرد ضعیف ناقلین غشای

1. Luo
2. García
3. Aydin
4. Hussain
5. Gharibi
6. Sanchez-Rodriguez
7. Apel
8. Kheradm
9. Hu
10. Schmidhalter

ریشه نسبت داده شده است (هو^۱ و اشמידهالتر^۲، ۲۰۰۵؛ هو^۳ و همکاران، ۲۰۱۳). طی پژوهش‌هایی گزارش شد که سطح نیتروژن برگ در گیاهان آفتابگردان (زرین‌جوب و همکاران، ۱۳۹۱)، نخود (انصاری^۴ و همکاران، ۲۰۱۵) و اسطوخودوس تحت تنش خشکی کاهش پیدا می‌کند (گارسیا-کاپارس^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). این پژوهشگران گزارش کردند که قابلیت دسترسی به فسفر در خاک بر میزان جذب نیتروژن و استفاده آن در گیاه مؤثر است. این کاهش نیتروژن به‌عنوان عامل اصلی کاهش فتوسنتز و پیری برگ در نظر گرفته می‌شود. کاهش قابل‌توجهی در مقدار فسفر برگ در ماش (رشیدی و همکاران، ۱۳۹۷) و کاهش سطح پتاسیم در آویشن در شرایط کمبود آب وجود داشت (بحرینی‌نژاد^۶ و همکاران، ۲۰۱۳). می‌تواند در تنظیم پتانسیل اسمزی در نعنای سبز تحت تنش خشکی مؤثر باشد. گزارش شده است که کاربرد هیومیک‌اسید باعث افزایش جذب عناصر کم‌مصرف و پرمصرف توسط گیاه می‌شود (الخطیب^۷ و همکاران، ۲۰۲۰). به‌نظر می‌رسد هیومیک‌اسید با اسیدی کردن خاک سبب تسهیل انحلال پتاسیم شده و میزان دسترسی به عناصر غذایی را افزایش می‌دهد (آیدین^۸ و همکاران، ۲۰۱۲؛ مگانید^۹ و همکاران، ۲۰۱۵). مصرف هیومیک‌اسید از طریق افزایش سطوح برگ و فعالیت فتوسنتزی سبب بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه لوبیا شده است (الخطیب^{۱۰} و همکاران، ۲۰۲۰).

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در بین منابع کودی تیمار "نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات+ بارور ۲+ هیومیک‌اسید" در بهبود عملکرد مؤثرتر عمل کرد. کاربرد کود زیستی فسفات بارور ۲ و هیومیک‌اسید منجر به افزایش وزن دانه در بوته شدند. از ویژگی‌های بررسی‌شده برگ در این مطالعه، کاروتنوئید برگ، میزان قند محلول، گلاسیین بتائین و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر کم‌آبیاری و منابع کودی قرار نگرفتند. تنش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، b و کاروتنوئید برگ را به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر قرار داد. تیمار کودی نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید مؤثرترین تیمار در بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی بودند. اعمال تنش جزئی (کم‌آبیاری) سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی سوپراکسیددیسکوتاز شد، اما تیمار کودی تیمار کودی نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید منجر به افزایش بیش‌تر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسکوتاز شد که بیانگر تقویت سیستم دفاعی گیاه بود. میزان عناصر ماکرو شامل نیتروژن، پتاسیم و میزان فسفر با اعمال کم‌آبیاری کاهش یافتند اما تیمار کودی نصف کود شیمیایی فسفات+ کود زیستی فسفات بارور ۲+ هیومیک‌اسید منجر به افزایش جذب این عناصر شد.

۷. تشکر و قدردانی

از مجموعه آزمایشگاهی "مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور" که در اندازه‌گیری بخشی از صفات این پژوهش کمک کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

1. Hu
2. Schmidhalter
3. Hu
4. Ansari
5. García-Caparrós
6. Bahreininejad
7. Elkhatib
8. Aydin
9. Meganid
10. Elkhatib

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

- آرمند، نظام؛ امیری، حمزه و اسماعیلی، احمد (۱۳۹۴). تأثیر متانول بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش خشکی. *پژوهش‌های زراعی ایران*، ۱۳(۴)، ۸۶۳-۸۵۴.
- باقرپور، یزدان؛ سلیمی، قباد؛ جبارپور، عاطفه و اصلانی، زهرا (۱۴۰۳). تأثیر کودهای زیستی عصاره جلبک دریایی و فسفات بارور ۲ بر روی رشد، محتوی و عملکرد اسانس گشنیز (*Coriandrum sativum*). *دانش کشاورزی و تولید پایدار*، ۳۴(۱)، ۶۵-۷۸.
- دست نشان، شکوفه؛ بی‌همتا، محمدرضا؛ عباسی، علیرضا؛ سبکدست، منیژه (۱۳۹۸). تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و کلروفیل فلورسانس ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.). *پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی*، ۱۱، ۹۲-۱۰۴.
- رشیدی، مریم؛ عباسی، نصرت‌اله و زارع، محمدجواد (۱۳۹۷). تأثیر کودهای شیمیایی و زیستی فسفر بر تجمع عناصر، محتوی کلروفیل، عملکرد دانه و رشد ریشه سه توده محلی ماش. *اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی*، ۴۸(۴)، ۶۵۰-۶۳۱.
- زرین‌جوب، حشمت؛ زارع، محمدجواد؛ محمدی گل‌تپه، ابراهیم؛ حاتمی، علی و پورسیابیدی، محمد (۱۳۹۱). تأثیر منابع مختلف فسفر بر عملکرد و جذب عناصر آفتاب‌گردان تحت دو سیستم کشت. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۵(۳)، ۹۹-۱۱۴.
- ساریخانی، محمدرضا و امینی، روح‌اله (۱۳۹۹). کودهای زیستی در کشاورزی پایدار: نگاهی به تحقیقات کودهای زیستی در ایران. *دانش کشاورزی و تولید پایدار*، ۳۰(۱)، ۳۶۵-۳۲۹.
- عباسی سیه‌جانی، ابراهیم؛ یارنیا، مهرداد؛ فرح‌وش، فرهاد؛ خورشیدی بنام، محمدباقر و اسدی رحمانی، هادی (۱۳۹۶). تأثیر باکتری‌های ریزوبیوم، سودوموناس و قارچ میکوریز بر برخی صفات لوبیای قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش خشکی. *دانش کشاورزی و تولید پایدار*، ۲۷(۱)، ۸۵-۱۰۲.
- قنبری، علی‌اکبر و بیضایی، اسماعیل (۱۳۸۶). بررسی صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی در لوبیا سفید و تعیین همبستگی ساده بین صفات. *علوم کشاورزی*، ۱۳(۳)، ۶۳۹-۶۲۹.

References

- Abbasi Seyahjani, E., Yarnia, M., Faravash, F., Khorsidi Benam, M. B., & Asadi Rahmani, H. (2017). Influence of rhizobium, pseudomonas & fungi mycorrhiza on some traits of red beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress. *Journal of Agricultural Science & Sustainable Production*, 27(1), 85-102. (In Persian).
- Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Alhrouf, H. H., Aldalin, H. K. H., Haddad, M. A., Bani-Hani, N. M., & Al-Dalein, S. Y. (2016). The impact of organic & inorganic fertilizer on yield & yield components of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Advances in Environmental Biology*, 10(9), 8-14.
- Ansari, S., Sarikhani, M.R., & Najafi, N. (2015). Inoculation effect of common biofertilizers on growth and uptake of some elements by bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in presence of soil indigenous microflora. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 4(1), 17-24.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signaling transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373.
- Armand, N., Amiri, H., & Ismaili, A. (2015). The effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress condition. *Iranian Journal of Filed Crops Research*, 13(4), 854-863. (In Persian).
- Aydin, A., Kant, C., & Turan, M. (2012). Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. *African Journal of Agricultural Research*, 7(7), 1073-1086.

- Bagerpoure, Y., Salimi, G., Pourjabar, A., & Aslani, Z. (2024). Effect of seaweed extract and phosphatebarvar-2 on the growth, yield and essential oil content of coriander (*Coriandrum sativum*). *Agricultural Science and Sustainable Production*, 34(1), 65-78. (In Persian).
- Bahreininejad, B., Razmjou, J., & Mirza, M. (2013). Influence of water stress on morpho-physiological & phytochemical traits in *Thymus daenensis*. *International of Plant Production*, 7(1), 151-166.
- Dastneshan, S., Bihamta, M. R., Abbasi, A., & Sabokdast, M. (2019). The effect of different levels of drought stress on some physiological traits and chlorophyll fluorescence of Bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *JCB*, 11(31), 92-104. (In Persian).
- Dhindsa, R. A., Plumb-Dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability & lipid peroxidation & decreased levels of superoxide dismutase & catalase. *Journal of Experimental Botany*, 126, 93-101.
- Doria, E., Campion, B., Sparvoli, F., Tava, A., & Nielsen, E. (2012). Anti-nutrient components & metabolites with health implications in seeds of 10 common bean (*Phaseolus vulgaris* L. & *Phaseolus lunatus* L.) l&races cultivated in southern Italy. *Journal of Food Composition & Analysis*, 26(1-2), 72-80.
- Elkhatib, H. A., Gabr, S. M., Roshdy, A. H., & Kasi, R. S. (2020). Effects of different nitrogen fertilization rates & foliar application of humic acid, fulvic acid & tryptophan on growth, productivity & chemical composition of common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Alexndria Science Exchange Journal*, 41(2), 191-204.
- FAO. (2022). World Food and Agriculture Statistical Pocketbook. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
- García, A. C., Santos, L. A., de Souza, L. G. A., Tavares, O. C. H., Zonta, E., Gomes, E. T. M., & Berbara, R. L. L. (2016). Vermicompost humic acids modulate the accumulation & metabolism of ROS in rice plants. *Journal of Plant Physiology*, 192, 56-63.
- García, A. C., Santos, L. A., Izquierdo, F. G., Rumjanek, V. M., Castro, R. N., dos Santos, F. S., & Berbara, R. L. L. (2014). Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Journal of Geochemical Exploration*, 136, 48-54.
- García-Caparrós, P., Romero, M. J., Llanderal, A., Cermeño, P., Lao, M. T., & Segura, M. L. (2019). Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, & costs of production in six Lamiaceae species. *Water*, 11(3), 573.
- Geilfus, C. M. (2019). Drought stress. In *Controlled environment horticulture* (pp. 81-97). Springer, Cham.
- Ghanbari, A. A., & Beyzaei, E. (2007). Study of morphological and phenological traits and correlation analysis in white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines. *Journal of Agricultural Science*, 13, 629-639. (In Persian).
- Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., & Goli, S.A.H. (2016). Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, & antioxidant activity of *Achillea* species. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 178(4), 796-809.
- Grieve, C., & Grattan, S. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil*, 70, 303-307.
- Haghighi, M., Kafi, M., & Fang, P. (2012). Photosynthetic activity and N metabolism of lettuce as affected by humic acid. *International Journal of Vegetable Science*, 18(2), 182-189.
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., & Bashir, S. (2014). Nutritional & health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 54(5), 580-592.
- Horst, J. H., & Cakmak, I. (1991). Effects of Aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, & peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycin max*). *Physiologia Plantarum*, 83, 463-468.
- Hosseinfard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyła, Ł., & Garnczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186.
- Hu, L., Wang, Z., & Huang, B. (2013). Effects of cytokinin & potassium on stomatal & photosynthetic recovery of Kentucky bluegrass from drought stress. *Crop Science*, 53(1), 221-231.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought & salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science*, 168(4), 541-549.
- Hussain, S., Rao, M. J., Anjum, M. A., Ejaz, S., Zakir, I., Ali, M. A., ... & Ahmad, S. (2019). Oxidative stress and antioxidant defense in plants under drought conditions. *Plant Abiotic Stress Tolerance: Agronomic, Molecular and Biotechnological Approaches*, 207-219.

- Ibrahim, H. A., & Abdellatif, Y. M. (2016). Effect of maltose & trehalose on growth, yield & some biochemical components of wheat plant under water stress. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 267-274.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline & total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiology*, 84, 55-60.
- Jariene, E., Danilcenko, H., Kulaitiene, J., & Gajewski, M. (2008). Effect of fertilizers on oil mustard seeds crude fat, fibre and protein quantity. *Agronomy Research*, 5, 43-49.
- Kang, H. M., & Saltveit, M. E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber & rice seedling leaves & roots & differentially affected by salicylic acid. *Plant Physiology*, 115, 571-576.
- Khan, A., Gurmani, R., Urman, A., Muhammad Khan, F., Hussain, Z., Ehsan Akhtar, M., & Khan, S. (2012). Effect of humic acid on the growth, yield, nutrient composition, photosynthetic pigment and total sugar contents of peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of The Chemical Society of Pakistan*, 35(1), 206-211.
- Khater, M. A., Dawood, M. G., Sadak, M. S., Shalaby, M. A., El-Awadi, M. E., & El-Din, K. G. (2018). Enhancement the performance of cowpea plants grown under drought conditions via trehalose application. *Middle East Journal of Agricultural Research*, 7(3), 782-800.
- Kheradm, M. A., Fehraj, S. S., Fatahi, E., & Raoofi, M. M. (2014). Effect of water stress on oil yield & some characteristics of *Brassica napus*. *International Research Journal of Applied & Basic Sciences*, 8(9), 1447-1453.
- Kögler, F., & Söffker, D. (2017). Water (stress) models & deficit irrigation: System-theoretical description & causality mapping. *Ecological Modelling*, 361, 135-156.
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K. J. (2019). The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8(4), 94.
- Luo, L.J. (2010). Breeding for water-saving & drought-resistance rice (WDR) in China. *Journal of Experimental Botany*, 61(13), 3509-3517.
- Meganid, A. S., Al-Zahrani, H. S., & El-Metwally, M. S. (2015). Effect of humic acid application on growth & chlorophyll contents of common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress conditions. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering & Technology*, 4(5), 2651-2660.
- Mizukoshi, K., Nishiwaki, T., Ohtake, N., Minagawa, R., Kobayashi, K., Ikarashi, T., & Ohyama, T. (1994). Determination of tungstate concentration in plant materials by HNO₃-HClO₄ digestion & colorimetric method using thiocyanate. *Plant Analysis & Methods*, 46, 51-56.
- Mora, V., Bacaicoa, E., Baigorri, R., Zamarrano, A. M., & García-Mina, J.M. (2014). NO & IAA key regulators in the shoot growth promoting action of humic acid in *Cucumis sativus* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(2), 430-439.
- Ohayama, T., Ito, M., Kobayashi, K., Araki, S., Yasuyoshi, S., Sasaki, O., Yamazaki, T., Sayoma, K., Tamemura, R., Izuno, Y., & Ikarashi, T. (1991). Analytical procedures of N, P & K content in plant & manure materials using H₂SO₄-H₂O₂ Kjeldahl digestion Method. Bulletin of the Faculty of Agriculture, Niigata University. *Food & Agriculture Organization of the United Nations*, 43, 111-120.
- Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Studies of a method for the determination of free proline content in plant extracts. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1851-1854.
- Rahimzadeh, S., & Pirzad, A. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi & *Pseudomonas* in reduce drought stress damage in flax (*Linum usitatissimum* L.): a field study. *Mycorrhiza*, 27(6), 537-552.
- Rashidi, M., Abbasi, N., & Zare, M. J. (2017). The effect of chemical and biological phosphorus fertilizers on accumulation of elements, chlorophyll content, seed yield and root growth of three local populations of mung bean. *Journal of Crop Ecophysiology*, 12(4), 650-631. (In Persian).
- 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), 37-45.
- Reuveni, R. (1995). Biochemical marker of disease resistance. In: Singh, R.P., & Singh, U.S. (Ed) *Molecular Methods in Plants Pathology*, 99-114.
- Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought stress in plants: causes, consequences, & tolerance. In *Drought Stress Tolerance in Plants*. Zürich: Springer.

- Sanchez-Rodriguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L. M., Blasco, B., Rios, J. J., Rosales, M. A., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2010). Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science*, 178, 30-40.
- Sarikhani, M. R., & Amini, R. (2020). Biofertilizer in Sustainable Agriculture: Review on the Researches of Biofertilizers in Iran. *Journal of Agricultural Science & Sustainable Production*, 30(1), 329-365. (In Persian).
- Seyahjani, E. A., Yarnia, M., Farahvash, F., Benam, M. B., & Rahmani, H. A. (2020). Influence of Rhizobium, Pseudomonas & Mycorrhiza on some physiological traits of red beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under different irrigation conditions. *Legum Research*, 43, 81-86.
- Shabala, S., White, R. G., Djordjevic, M. A., Ruan, Y. L., & Mathesius, U. (2015). Root-to-shoot signalling: integration of diverse molecules, pathways & functions. *Functional Plant Biology*, 43(2), 87-104.
- Shah, Z. H., Rehman, H. M., Akhtar, T., Alsamadany, H., Hamooh, B. T., Mujtaba, T., & Chung, G. (2018). Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 9, 263.
- Sharma, A., Wang, J., Xu, D., Tao, S., Chong, S., Yan, D., & Zheng, B. (2020). Melatonin regulates the functional components of photosynthesis, antioxidant system, gene expression, & metabolic pathways to induce drought resistance in grafted *Carya cathayensis* plants. *Science of the Total Environment*, 713, 136675.
- Shinde, S., Villamor, J. G., Lin, W., Sharma, S., & Verslues, P. E. (2016). Proline coordination with fatty acid synthesis & redox metabolism of chloroplast & mitochondria. *Plant Physiology*, 172(2), 1074-1088.
- Sicher, R. C., & Barnaby, J. Y. (2012). Impact of carbon dioxide enrichment on the responses of maize leaf transcripts & metabolites to water stress. *Physiologia Plantarum*, 144(3), 238-253.
- Solanki, J. K., & Sarangi, S. K. (2014). Effect of drought stress on proline accumulation in peanut genotypes. *International Journal of Advanced Research*, 2(10), 301-309.
- Zandonadi, D. B., Santos, M. P., Caixeta, L. S., Marinho, E. B., Peres, L. E. P., & Façanha, A. R. (2016). Plant proton pumps as markers of biostimulant action. *Scientia Agricola*, 73, 24-28.
- Zarea, M. J., Chordia, P., & Varma, A. (2013). *Piriformospora indica* versus salt stress. In: Piriformospora indica, Soil biology. Varma, A., K. Gerhard, & O. Ralf. (eds.). pp 33-56. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Zarinjoob, h., Zarea, M. J., Mohammadi Goltapeh, E., Hatami, A., & Porsiabidi, M. (2010). Effect of the various sources of phosphorus on yield and nutrient uptake of sunflower under two cropping system. *Crop Production*, 5(3), 99-114. (In Persian).
- Zhang, G. H., Su, Q., An, L. J., & Wu, S. (2008). Characterization & expression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene from the monocot halophyte *Aeluropus litoralis*. *Plant Physiology & Biochemistry*, 46(2), 117-126.
- 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.