عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک ذرت با کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی تحت سطوح خشکی

نسرین امانی[۱]، یوسف سهرابی[۲*]، غلامرضا حیدری[۲]

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/١٦ تاریخ پذیرش: ۹٦/۲/٤

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان
۲- دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان
*مسئول مکاتبه: E:mail: y.sohrabi@uok.ac.ir or yousef.sohrab@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک ذرت در سطوح تنش خشکی، آزمایشی مزرعه‌ای در سال زراعی ۱۳۹۰ به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان انجام شد. سه سطح آبیاری شامل: آبیاری مطلوب (آبیاری در پتانسیل آب خاک ۳- بار)، تنش متوسط خشکی (آبیاری در پتانسیل آب خاک ۷- بار) و تنش شدید خشکی (آبیاری در پتانسیل آب خاک ۱۱- بار) در کرت‌های اصلی قرار گرفتند و چهار سطح کودی، شامل عدم مصرف کود (شاهد)، کود زیستی فسفاته بارور۲ + نیتروکسین، کود شیمیایی و تلفیقی از دو نوع کود (۵۰٪ کود شیمیایی + ۱۰۰٪ کود زیستی) به عنوان سطوح فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که تنش کمبود آب اثرات منفی روی عملکرد داشت و کاربرد کود نتوانست از کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش شدید خشکی جلوگیری نماید. بیشترین عملکرد دانه در شرایط آبیاری مطلوب و کاربرد تیمار تلفیقی کود شیمیایی + کود زیستی فسفاته بارور ۲ و نیتروکسین با میانگین عملکرد ۱۳ تن در هکتار حاصل شد که نسبت به شاهد ۲۵۷ درصد افزایش نشان داد. با افزایش شدت تنش محتوی کلروفیل a کاهش ولی محتوی کلروفیل b افزایش پیدا کرد. نتایج نشان داد که فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش خشکی بیشتر از شرایط آبیاری مطلوب افزایش یافت. کاربرد کود تا حدودی باعث تعدیل اثرات تنش خشکی شد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: ذرت، سطوح مختلف آبیاری، کیفیت بذر، کود شیمیایی و زیستی

Yield and Some Physiological Characteristics in Maize by Application of Bio and Chemical Fertilizers Under Drought Levels

Nasrin Amani[1], Yousef Sohrabi[2]*, Gholamreza Heidari[2]

Received: July 7, 2015 Accepted: April 24, 2017

1-MSc, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.
2-Assoc. and Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.
* Corresponding Author: E-mail: yousef.sohrab@yahoo.com or y.sohrabi@uok.ac.ir

Abstract

The effects of bio and chemical fertilizers on yield and some of physiological characteristics in maize under drought stress levels, were studied by an experiment in the research field of agricultural faculty, university of kurdistan in 2011. The experiment was arranged in split plot based on randomized complete block design with three replications. Three irrigation levels containing optimal irrigation (irrigation at soil water potential -3 bar), moderate drought stress (irrigation at soil water potential -7 bar) and severe water stress (irrigation at soil water potential -11 bar) were allocated to main plots and four fertilizer levels including no fertilizer (control), chemical fertilizer, bio-fertilizer and a combination of biological and chemical fertilizer (100% biological + 50% chemical) were considered as sub factor. Results showed that water deficit stress had negative effects on yield, and the fertilizer application could not prevent reduction of grain yield under severe drought stress condition. The highest grain yield was obtained under optimum irrigation and application of combinational treatment chemical fertilizer + phosphate-biofertilizer + nitroxin with an average of yield 13 ton.ha^{-1} that showed a 257 percent increase in comparison with control. The chlorophyll a content was decreased, but chlorophyll b content was decreased with increasing stress intensity. The results showed that catalase and peroxidase enzymes activity were increased in drought stress conditions more than optimal irrigation condition. The application of fertilizer partly mitigated the effects of drought stress and reduced antioxidant enzymes activity.

Keywords: Chemical and Biological Fertilizers, Different Levels of Irrigation, Maize, Seed Quality

مقدمه

ذرت یکی از محصولات تابستانه با نیاز آبی زیاد و نسبتاً حساس به کم آبی است (کیکر ۲۰۰٤). رشد بهینه گیاه و موفقیت در تولید محصول به شرایطی همچون خاک مناسب و وجود آب و عناصر غذایی کافی نیاز دارد. تنش‌های محیطی از عواملی هستند که از رشد و توسعه مناسب گیاه جلوگیری می‌کنند و عملکرد گیاه را به شدت کاهش می‌دهند (تورهان و باسر ۲۰۰٤). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان محسوب می‌گردد. تنش کمبود آب زمانی رخ می‌دهد که سرعت تعرق بیش از سرعت جذب آب می‌باشد. در واقع، با کاهش مقدار آب در خاک و عدم جایگزینی آن، میزان جذب آب از هدررفت آن کمتر بوده و پتانسیل آب در گیاه کاهش می‌یابد (باربارا و همکاران ۲۰۱٤). تنش کمبود آب، صدمات متعددی را به گیاهان وارد می‌کند و گیاهان واکنش‌های متفاوتی را در جریان تنش از خود نشان می‌دهند. تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش میزان تعرق و فتوسنتز خالص (سعیدی و همکاران ۲۰۱۰)، کاهش پتانسیل آب بافت های گیاه، تجمع آبسزیک اسید، پرولین (خان و همکاران ۲۰۱۲)، گلیسین بتائین و پلی‌فنل‌ها (فریدودین و همکاران ۲۰۱۳)، مانیتول، سوربیتول، تشکیل ترکیبات حذف کننده رادیکال‌های آزاد (آنتی‌اکسیدانت‌ها) و سنتز پروتئین‌های جدید (خان و همکاران ۲۰۱۲) می‌گردد. این متابولیت‌ها تحت تنش کمبود آب تجمع پیدا می‌کنند و به عنوان تنظیم کننده‌های اسمزی در حفظ تورژسانس سلولی ایفای نقش می‌کنند (کیرخام ۲۰۱٦). یکی از اثراتی که بسیاری از تنش‌ها از جمله تنش خشکی بر گیاهان دارند افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن است که باعث تخریب پروتئین و لیپیدهای غشاء و بسیاری از ماکرومولکول‌های درونی گیاه می‌شوند (چن و همکاران، ۲۰۰۰ و جیانگ و همکاران ۲۰۰۱). گیاه برای مقابله با این گونه‌های فعال اکسیژنی تولید آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله کاتالاز و پراکسیداز را افزایش می‌دهد (جیانگ و همکاران ۲۰۰۱). لونا و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که کاتالاز در تمام سلول‌های گیاهی یافت می‌شود و سلول‌های گیاهی را از سمیت پراکسید هیدروژن که در نتیجه فعالیت‌های متابولیکی سلول تولید می‌شوند، حفظ می‌کند. یک مولکول کاتالاز قادر است در یک ثانیه یک میلیون مولکول از $H2O2$ را به آب و اکسیژن تبدیل کند (لونا و همکاران ۲۰۰۵). از طرف دیگر، تنش خشکی باعث تجمع برخی از ترکیبات از جمله پرولین می‌گردد. تجمع پرولین اولین واکنش گیاه در معرض تنش کمبود آب به منظور کاهش خسارت به سلول است (انجوم ۲۰۱۱). پرولین از طریق مکانیسم‌های متفاوت نظیر تنظیم اسمزی، سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن، حفظ تمامیت غشاء و ساختمان پروتئین‌ها گیاهان را از تنش‌ها محافظت می‌نماید (پتید ۲۰۱۱)

ذرت برای رشد و تولید محصول علاوه بر آب، به مقدار زیادی نیتروژن و فسفر نیز نیاز دارد. نیتروژن عنصری کلیدی در تغذیه گیاهان به حساب می‌آید (هسیگاوا و همکاران ۲۰۰۸) و به عنوان یک جزء اصلی در ساختمان تعدادی مولکول‌های زنده از قبیل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، اسیدهای آمینه، آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و رنگیزه‌ها نقش اساسی در گیاهان ایفا می‌کند (هسیگاو و همکاران ۲۰۰۸). بر اساس گزارش یولگر و همکاران (۱۹۹۷) با افزایش سطوح مصرف کود نیتروژن، تعداد دانه در بلال، وزن هزار دانه و عملکرد دانه ذرت افزایش می‌یابد. بدیهی است که وجود هر یک از نهاده‌های آب و کود برای رشد و افزایش عملکرد ضروری است و کمبود یکی از آنها بر کارایی مصرف دیگری مؤثر است. زمانی که آب به کار رفته از طریق آبیاری کمتر از مقدار نیاز آبی گیاه باشد استفاده از کود بر مبنای آبیاری کامل باعث هدر رفت کود و افزایش آلودگی آب‌های زیرزمینی می‌شود (تیرکلاین و ویدیال ۲۰۰٦). از طرف دیگر با توجه به نیاز بالای ذرت به عناصر غذایی و عدم توانایی اکثر خاک‌های زراعی در تأمین این عناصر، میزان مصرف کودهای شیمیایی در این زراعت، بسیار بالا است (میرهادی ۲۰۰۱). با

توجه به اینکه به هنگام استفاده از کودهای شیمیایی در ابتدای فصل زراعی، ممکن است بخشی از فرم شیمیایی قابل استفاده عناصر برای گیاه به فرم‌های دیگر تبدیل شود و یا از طریق آبشوئی از دسترس گیاه خارج گردند، این امر باعث ضررهای اقتصادی و آلودگی محیط زیست نیز می‌گردد، بنابراین جهت افزایش کارائی مصرف عناصر غذایی، روش‌های مصرف کود باید به گونه‌ای تغییر کند که مواد غذایی مورد نیاز گیاه در طول یک مدت طولانی و بدون تلفات در اختیار گیاه قرار گیرد (کندی و همکاران ۲۰۰٤). استفاده از کودهای زیستی حل کننده فسفر و تثبیت کننده نیتروژن از جمله روش‌های عملیات زراعی بهینه است که می‌تواند این نقص را برطرف نماید (وو و همکاران ۲۰۰۵). کودهای زیستی، حاوی مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم از یک یا چند نوع میکروارگانیسم مفید خاکزی هستند و یا به صورت فرآورده متابولیکی این موجودات می‌باشند که به منظور بهبود حاصلخیزی خاک و عرضه مناسب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه در یک سیستم کشاورزی پایدار به کار می روند. باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن از قبیل *Azotobacter spp.* و *Azospirillum spp.* نه تنها باعث تثبیت نیتروژن می‌شوند، بلکه قادر به تولید فیتوهورمون‌هایی مثل اسید جیبرلیک و ایندول استیک اسید هستند که می توانند باعث تحریک رشد گیاه و جذب مواد غذایی و فتوسنتز شوند (محفوظ و شرف الدین ۲۰۰۷). در پژوهش پیرسته انوشه (۲۰۱۰) که طی آن کودهای زیستی در سطوح مختلف تنش خشکی برای گیاه آفتابگردان مورد استفاده قرار گرفتند مشخص گردید در تیمارهای بدون تنش و تنش ملایم، گیاهان برخوردار از کود زیستی نیتروکسین بهترین عملکرد دانه را داشتند. لازم به ذکر است که در تنش های شدیدتر، کودهای زیستی نسبت به کودهای شیمیایی تأثیر مثبت بیشتری بر عملکرد بیولوژیک گیاه داشتند. دادرسان و همکاران (۲۰۱٦) در مطالعه اثرات کم آبی و کودهای زیستی و شیمیایی روی گیاه شنبلیله گزارش کردند که به کارگیری ترکیب کودهای شیمیایی و زیستی عملکرد دانه را تحت شرایط تنش خشکی به طور معنی‌داری افزایش داد. این محققان اظهار داشتند که کاربرد کودهای بیولوژیک تحمل به خشکی را در این گیاه افزایش داد.

هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیک گیاه ذرت تحت شرایط مختلف آبیاری بود. همچنین بررسی این مسأله که آیا کاربرد کودهای زیستی یا شیمیایی می‌تواند اثر تنش خشکی بر گیاه ذرت را تعدیل نماید هدف دیگر این تحقیق بود.

مواد و روش ها

آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۰ به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کردستان اجرا شد. این مزرعه تحقیقاتی در ٤ کیلومتری جنوب شرقی شهرستان سنندج قرار دارد و دارای طول جغرافیایی ٤۷ درجه و ا دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۱٦ دقیقه شمالی بوده و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۰۰ متر است. اطلاعات مربوط به داده‌های هواشناسی در جدول ۱ و نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش در جدول ۲ آمده است.

ذرت رقم سینگل کراس ۷۰٤ دانه‌ای برای کاشت در این آزمایش، مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش، سطوح آبیاری، شامل: ۱- آبیاری مطلوب (بعد از هر آبیاری، زمانی که پتانسیل آب خاک به ۳- بار رسید، آبیاری بعدی صورت گرفت)، ۲- تنش متوسط خشکی (بعد از هر بار آبیاری ، هنگامی که پتانسیل آب خاک به ۷- بار رسید، آبیاری بعدی انجام گرفت) و ۳- تنش شدید خشکی (بعد از هر بار آبیاری زمانی که پتانسیل آب خاک به ۱۱- بار رسید، آبیاری بعدی صورت گرفت) در کرت‌های اصلی قرار گرفتند. تیمارهای کودی

جدول۱- اطلاعات هواشناسی مربوط به شهرستان سنندج طی دوره انجام آزمایش (۱۳۹۰)

ماه ها	میانگین حداکثر دما (درجه سانتی گراد)	میانگین حداقل دما (درجه سانتی گراد)	میانگین دمای ماهانه (درجه سانتی گراد)	بارش ماهانه (میلی متر)	میانگین رطوبت نسبی (درصد)
فروردین	۱۸/۸	۳/۷	۱۰/۸	۳۳/۲	۳۳/۲
اردیبهشت	۲۶/۲	۸/۷	۱۷/۳	۲۶/۳	۲۶/۳
خرداد	۳۲/۵	۱۳/۶	۲۳/۲	۹/۲	۹/۲
تیر	۳۶/۶	۱۶/۶	۲۶/۹	۲/۷	۲/۷
مرداد	۳۸/۲	۱۷/۲	۲۸/۱	۱/۵	۱/۵
شهریور	۳۴/۸	۱۳/۷	۲۴/۶	۰/۲	۰/۲
مهر	۲۷/۶	۸/۷	۱۸/۱	۲/۹	۲/۹

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

عمق (cm)	درصد اشباع (sp %)	هدایت الکتریکی (ds/m)	اسیدیته pH	کربن آلی (٪)	ازت کل (٪)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاس قابل جذب (ppm)	بافت خاک
۳۰-۰	۵۰	۰/۴۱	۶/۷	۱/۸۱	۰/۲۱	۷/۲	۴۶	رسی سیلتی

شامل عدم استفاده از کود (شاهد)، کود شیمیایی (۳۰۰ کیلوگرم کود نیتروژن + ۱۵۰ کیلوگرم کود فسفاته به ازای هر هکتار)، کود زیستی فسفاته بارور۲ + نیتروکسین به صورت صد درصد (۱۰۰ گرم فسفاته بارور ۲ و یک لیتر نیتروکسین به ازای هر هکتار) و تلفیقی از دو نوع کود (شیمیایی ۵۰٪ + کود زیستی فسفاته بارور ۲ و نیتروکسین به صورت ۱۰۰٪) سطوح فاکتور فرعی را تشکیل دادند. هر واحد کرت فرعی شامل یک کرت به مساحت ۲۰ متر مربع و پنج ردیف کاشت به طول چهار متر با فاصله ردیف ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها روی ردیف، ۱۸ سانتی متر بود. برای تعیین میزان رطوبت خاک مزرعه، ابتدا منحنی رطوبتی خاک توسط دستگاه Pressure plate تعیین گردید و سپس برای هر بار آبیاری، پتانسیل آب خاک به طور روزانه با استفاده از روش وزنی، تعیین می‌شد و پس از رسیدن پتانسیل آب خاک به مقادیر مورد نظر، آبیاری تیمارهای مختلف شاهد و تنش خشکی انجام می‌گردید. بر اساس نتایج تجزیه خاک، کود فسفره مورد نیاز گیاه قبل از کاشت با خاک مخلوط گردید. یک دوم کود نیتروژنه مورد نیاز ذرت در موقع کاشت و بقیه کود در مرحله ٦ تا ٨ برگی به صورت سرک مصرف شد. مصرف کودهای شیمیایی بر اساس نتایج آزمون تجزیه خاک تعیین گردید. در تیمارهایی که در آنها از کود زیستی استفاده گردیده بود، بذرها قبل از کاشت توسط کودهای زیستی تلقیح شدند و سپس در سایه خشک شده و بلافاصله جهت کاشت مورد استفاده قرار گرفتند. کود زیستی نیتروکسین، حاوی باکتری‌های جنس ازتوباکتر و آزوسپریلیوم می‌باشد که با جمعیت ۱۰۸ عدد باکتری از هر کدام از جنس‌های فوق تولید و عرضه می‌گردد. کود زیستی فسفاته بارور ۲ حاوی دو نوع باکتری از جنس باسیلوس، گونه لنتوس (سویه P5) و همچنین جنس سودوموناس، گونه پوتیدا (سویه P13) می‌باشد.

اندازه‌گیری صفات

برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک مورد نظر، ۱۵ روز بعد از گلدهی پس از حذف اثرات حاشیه‌ای (در هر کرت، حذف دو ردیف کناری و همچنین دو بوته از ابتدا و انتهایی هر ردیف) از بوته‌های ردیف‌های میانی که از یکنواختی یکسانی برخوردار بودند نمونه‌های برگی (بالاترین برگ کاملاً توسعه یافته) تهیه شد. جهت تعیین عملکرد دانه نیز با رعایت اثر حاشیه دو مترمربع از هر کرت در مرحله رسیدگی کامل برداشت گردید و پس از محاسبه، بر حسب کیلوگرم در هکتار بیان شد.

اندازه‌گیری پرولین

به منظور اندازه‌گیری مقدار پرولین، از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. پس از تعیین مقدار پرولین در هر گرم وزن تر برگ، با توجه به نسبت وزن خشک به وزن تر، غلظت پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ ارائه شد. میزان پرولین با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید.

[رابطه ۱] میزان پرولین (میکرو مول درگرم وزن تر برگ) = پرولین محاسبه شده از روی منحنی استاندارد ×٤×٥ / (وزن نمونه ×١١٥/٥ درصد ماده خشک)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز از عصاره پروتئینی استخراج شده از برگ پرچم استفاده شد سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش مک آدام و همکاران (۱۹۹۲) صورت گرفت. تغییرات جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر به مدت ١٨٠ ثانیه در ٢٥ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتوفتومتر قرائت شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش چنس و ماهلی (۱۹۹۵) استفاده گردید. تغییرات جذب در ٢٤٠ نانومتر به مدت ٦٠ ثانیه در ٢٥ درجه با استفاده از اسپکتوفتومتر قرائت گردید. در انتها، تغییرات آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین، برای هر دو آنزیم بیان شد.

اندازه‌گیری پایداری غشای سلولی در برابر تنش خشکی

به منظور اندازه‌گیری میزان پایداری غشای سلولی، دو هفته پس از گلدهی از هر واحد آزمایشی، ٥ عدد برگ پرچم برداشت شد و سپس در آزمایشگاه پنج برگ جدا شده به ١٥ قسمت مساوی تقسیم گردیدند. برای تعیین میزان پایداری غشاء سلولی از روش بلوم و ابرکون (۱۹۸۱) استفاده شد. در نهایت، درصد پایداری غشاء در برابر تنش خشکی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

[رابطه ۲] درصد پایداری غشای سلولی = $[1 - (1 - (T1 / T2) / 1 - (C1/ C2))]$

در رابطه فوق T_2 و T_1 به ترتیب، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها، قبل و بعد از اتوکلاو در لوله‌های آزمایشی که به عنوان تنش در نظر گرفته شد و C_2 و C_1 به ترتیب میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها قبل و بعد از اتوکلاو در لوله‌هایی که به عنوان شاهد در نظر گرفته شد، می‌باشند و بر حسب µs/cm هستند. پس از تعیین درصد پایداری غشاء، درصد خسارت به غشاء به تناسب آن مشخص گردید .استخراج کلروفیل با استفاده از استون و اندازه‌گیری آن به روش آرون (۱۹٤۹) انجام گرفت. میزان جذب نور توسط عصاره حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ٦٦٣ و ٦٤٥ نانومتر تعیین گردید. غلظت کلروفیل a، b و مجموع آنها از طریق روابط زیر تعیین شد. در روابط

زیر v حجم نهایی نمونه استخراج شده و w وزن تر نمونه است.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل

استخراج کلروفیل با استفاده از استون و اندازه‌گیری آن به روش آرون (۱۹۴۹) انجام گرفت. میزان جذب نور توسط عصاره حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ٦٦٣ و ٦٤٥ نانومتر تعیین گردید. غلظت کلروفیل a، b و مجموع آنها از طریق روابط زیر تعیین شد. در روابط زیر v حجم نهایی نمونه استخراج شده و w وزن تر نمونه است.

[رابطه ۲] (جذب در ٦٦٣)۱۲,۷ - (جذب در ٦٤٥ نانومتر)۲/٦۹ }× V/(1000*W) = میلی‌گرم کلروفیل a در هر گرم وزن تر

[رابطه ۳] (جذب در ٦٤٥)۲۲,۹ - (جذب در ٦٦٣ نانومتر)٤/٦۹ }× V/(1000*W) = میلی‌گرم کلروفیل b در هر گرم وزن تر

محاسبات آماری

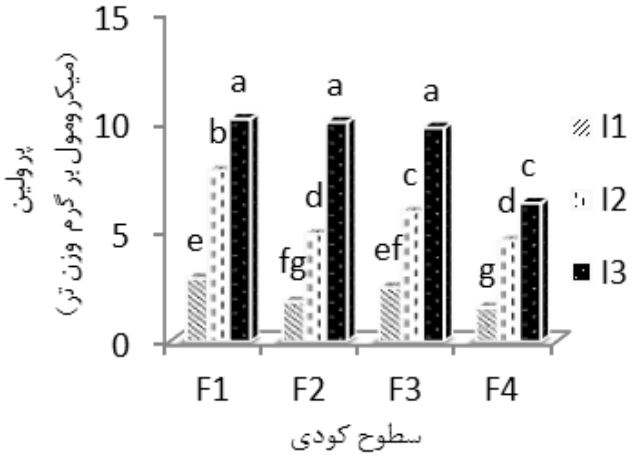
پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها تجزیه و تحلیل‌های آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS، و رسم نمودارها با بهره‌گیری از نرم افزار Excel انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از روش LSD استفاده گردید.

نتایج و بحث

پرولین

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میزان پرولین نشان داد که اثر سطوح آبیاری و سطوح کودی و اثر توأم آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر میزان پرولین، معنی دار است (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به اثر توأم سطوح آبیاری و کودی گویای آن است که گیاهان تحت تیمار آبیاری مطلوب و ترکیب کود زیستی و شیمیایی، با میانگین ۱/٥٤ میکرومول بر گرم وزن تر برگ، کمترین مقدار پرولین و گیاهان تحت تیمار تنش شدید و عدم مصرف کود، بیشترین میزان پرولین را دارا بودند (شکل ۱). نتایج نشان می‌دهد که با بروز تنش خشکی و افزایش شدت آن، مقدار پرولین افزایش یافت به طوری که در گیاهان تحت تنش شدید در مقایسه با گیاهان تحت تنش ملایم و عدم تنش مقدار پرولین به ترتیب حدود ۲۷۰ و ٥۰ درصد افزایش پیدا کرد، اما کاربرد توأم کود زیستی و شیمیایی تا حدودی میزان پرولین را در گیاه کاهش داد. در طی خشکی طولانی مدت، انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس، منجر به تغییر غلظت برخی از متابولیت‌ها می‌شود. از سوی دیگر میزان محلول‌های سازگار به خشکی نظیر قندها، قندهای الکلی، آمینواسیدهای ویژه نظیر پرولین، گلیسین و بتائین افزایش می‌یابد (وو ۲۰۰۳). افزایش پرولین در طی تنش ممکن است نتیجه تجزیه‌ی پروتئین‌ها و همچنین کاهش استفاده از آن ها به دلیل کاهش رشد گیاه باشد. محمد و احمد (۲۰۱۰) در مطالعه خود روی گندم اظهار داشتند که در شرایط تنش خشکی غلظت پرولین در ریشه و اندام‌های هوایی دو رقم گندم افزایش یافت. در بیان علت افزایش کمتر تجمع پرولین در گیاه ذرت تحت تیمار کاربرد توأم کودهای زیستی و شیمیایی می توان اظهار داشت که احتمالاً تأمین مناسب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه در نتیجه استفاده از این تیمار کودی از یک طرف و همچنین اثرات مفیدی که میکروارگانیسم های موجود در کودهای زیستی فسفاته بارور۲ و نیتروکسین روی گیاه گذاشته‌اند، مجموعاً باعث گردیده است که اثر تنش خشکی روی گیاه کاهش یابد و به تبع آن، میزان تجمع پرولین نیز در گیاه کاهش یابد. باکتری‌های موجود در کود زیستی نیتروکسین، علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر پر مصرف و ریز مغذی

مورد نیاز گیاه، ترشح اسیدهای آمینه و انواع آنتی بیوتیک‌ها را نیز بر عهده دارند (اختر و سیدیکویی ۲۰۰۹). در ضمن، باکتری‌های همزیست باعث افزایش سطح جذب ریشه گیاه می‌شوند که به میزبان کمک می‌کند تا میزان آب بیشتری از خاک جذب نماید و کمتر تحت اثرات تنش خشکی قرار گیرد (اگو ۲۰۰۱). نادری و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق خود روی ذرت نشان دادند که کاربرد توأم کودهای زیستی و شیمیایی در شرایط تنش و عدم تنش خشکی محتوی پرولین گیاه را نسبت به شاهد بدون کود افزایش داد که با نتایج تحقیق حاضر در تناقض است.



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان پرولین برگ ذرت در سطوح آبیاری (I1= آبیاری مطلوب، I2= تنش متوسط، I3= تنش شدید خشکی)، و نوع کود مصرفی (F1= شاهد (بدون کود)، F2= کود شیمیایی ۱۰۰٪، F3= کود زیستی ۱۰۰٪، F4= کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی)، حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقادیر صفات پایداری غشای سلولی، پرولین، پروتئین‌های محلول برگ، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ، محتوی کلروفیل a و b برگ و عملکرد دانه ذرت سینگل کراس ۷۰۴ تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری و کودی

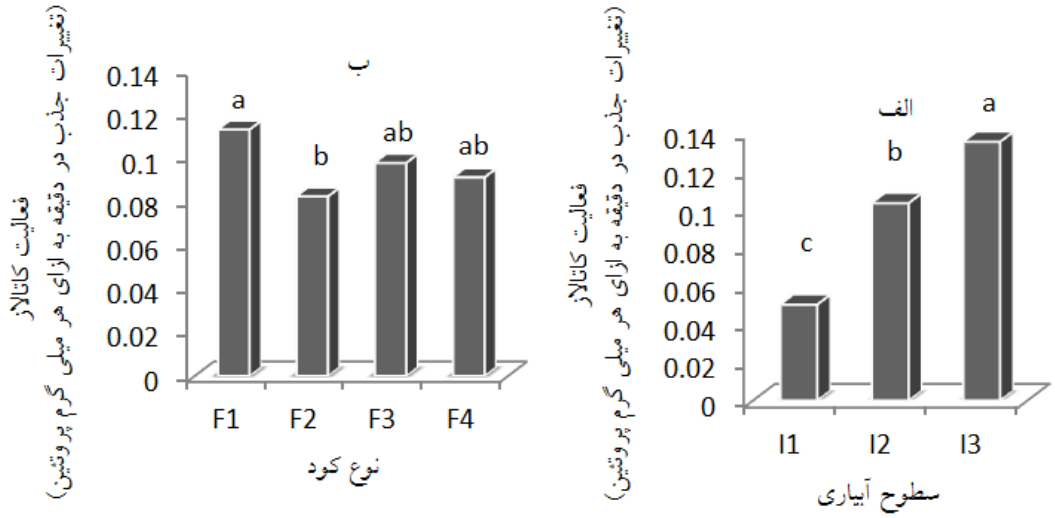
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		پرولین	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز	پایداری غشای سلولی	کلروفیل a	کلروفیل b	عملکرد دانه
تکرار	۲	۰/۵۳۶	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۶۷	۲/۸۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۴	۵۰۸۶/۱
آبیاری	۲	۱۴۲/۳۴۶ **	۰/۰۱۴**	۴/۰۶۵**	۶۴۳/۹۷۹**	۰/۱۲**	۰/۰۱۸ **	۹۷۴۳۲۲۳۲/۲**
خطای a	٤	۰/۰٤٥	۰/۰۰۰٤۲	۰/۰۷٥۳	۰/٤۷۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۹٤۱٦۹/٤
تیمار کودی	۳	۱۲/۱٦۹ **	۰/۰۰۳ **	۰/۷٤۹**	۱۷/٤۳۳**	۰/۰۸**	۰/۰۰۳٤ **	٤۹۹۷٥۳۳۰/۲ **
آبیاری * کود	٦	۲/٦٤۸ **	۰/۰۰۰۲ n.s	۰/۰۷۳٥ n.s	۱/۲٦۹ n.s	۰/۰۱**	۰/۰۰۰٤۷n.s	۸٦۱۸٤۷۸ **
خطای b	۱۸	۰/۱۸۹	۰/۰۰۰٤۳	۰/۰٦٥	۰/۳٦۳	۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۰۲۸	۱۱۲۹۱۹/٤
ضریب تغییرات (%)		۷/٦٦	۲۰/٦۱	۱۲/٤٦	٤/٤۸	٥/۳۸	۷/۲۱	٥/۲۹

n.s، * و ** : به ترتیب، غیر معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

آنزیم کاتالاز

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده سطوح آبیاری و سطوح کودی بر میزان فعالیت کاتالاز برگ ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که با افزایش شدت تنش خشکی فعالیت کاتالاز افزایش یافت، به طوری، که بالاترین فعالیت کاتالاز در شرایط تنش شدید خشکی مشاهده گردید (شکل ۲ الف). در شرایط تنش شدید و ملایم خشکی در مقایسه با شرایط عدم تنش میزان فعالیت کاتالاز به ترتیب ۱۵٤ و ۱۰۰ درصد افزایش پیدا کرد.

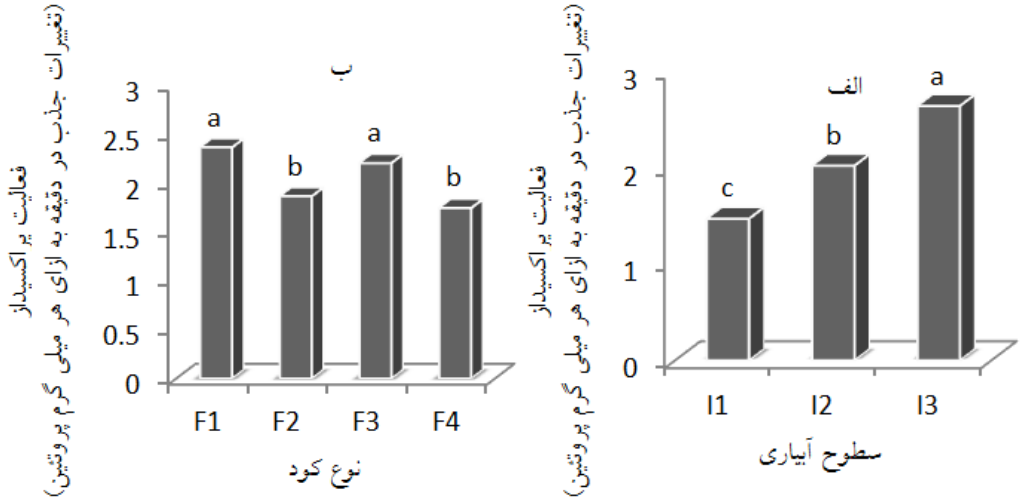
افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش‌ها برای زنده ماندن سلول و ادامه یافتن فعالیت ارگانیسم گیاه، حیاتی می باشد. به طور کلی می توان چنین عنوان داشت که علت افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی آن است که با کاهش آب قابل دسترس برای گیاه و افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن، این آنزیم به عنوان یکی از اجزای مهم مکانیسم دفاعی در گیاه عمل می نماید. پور اسماعیل و همکاران (۲۰۰٦) نیز در بررسی تأثیر استفاده از پلیمر سوپر جاذب آب بر افزایش عملکرد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ارقام مختلف لوبیا قرمز تحت شرایط تنش خشکی اظهار داشتند که با کاهش آب قابل دسترس گیاه و بروز تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله کاتالاز به طور چشمگیری افزایش پیدا کرد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همان گونه که در شکل ۲ ب ملاحظه می‌گردد مصرف کود در مقایسه با شرایط عدم مصرف کود باعث کاهش فعالیت کاتالاز شد، هر چند که این کاهش، تنها در شرایط کاربرد کودهای شیمیایی به تنهایی، معنی دار گردید. با توجه به اینکه تغذیه مناسب گیاهی در بالا بردن سطح تحمل گیاهان در برابر انواع تنش ها نقش به سزایی دارد (سپهری ۲۰۰۵)، احتمالاً تأمین مناسب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به واسطه استفاده از کودهای شیمیایی توانسته اثر تنش بر گیاه را کاهش داده و گیاه را در شرایط مناسب تری قرار دهد و تبع آن، گیاه مقدار کاتالاز کمتری تولید نموده است. عمر و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تحقیقی نشان دادند که در گیاهچه‌های جو در معرض تنش در شرایط تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا کرد.



شکل ۲- مقایسه میانگین میزان فعالیت کاتالاز در برگ‌های ذرت در سطوح مختلف آبیاری (**I1**= آبیاری مطلوب، **I2**= تنش متوسط، **I3**= تنش شدید خشکی) (الف) و نوع کود مصرفی (**F1**= شاهد (بدون کود)، **F2**= کود شیمیایی، **F3**= کود زیستی، **F4**= کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی)، (ب) حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

آنزیم پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان می‌دهد که اثر ساده سطوح آبیاری و سطوح کودی در سطح احتمال یک درصد، بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است که با افزایش تنش خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز به طور چشمگیری افزایش یافت، به طوری که بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان تحت تنش شدید خشکی مشاهده گردید (شکل ۳ الف). تنش شدید و ملایم خشکی در مقایسه با شرایط عدم تنش میزان فعالیت پراکسیداز را به ترتیب ۷۵ و ۳۷ درصد افزایش دادند.



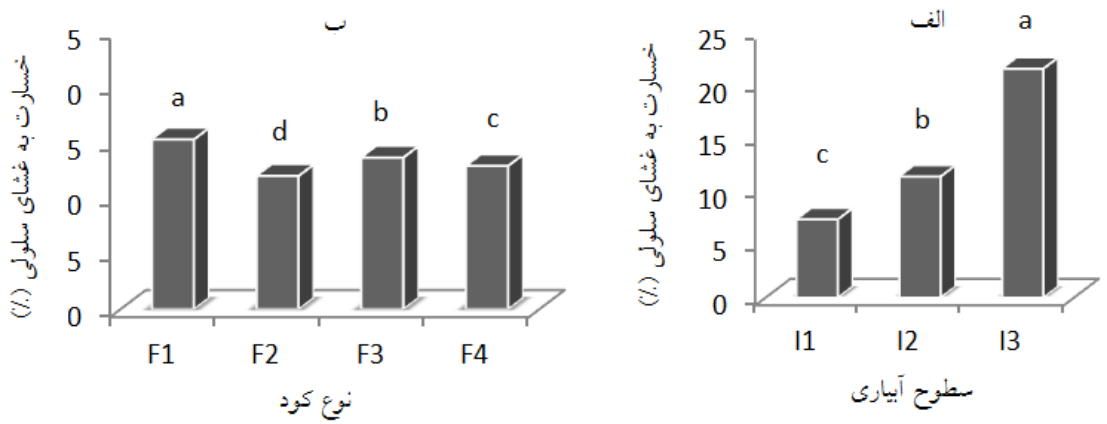
شکل ۳- مقایسه میانگین میزان فعالیت پراکسیداز در برگ‌های ذرت در سطوح مختلف آبیاری (I1= آبیاری مطلوب، I2= تنش متوسط، I3= تنش شدید خشکی) (الف) و نوع کود مصرفی (F1= شاهد (بدون کود)، F2= کود شیمیایی، F3= کود زیستی، F4= کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی) (ب)، حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های جانگ (۲۰۰٤) مطابقت دارد. جانگ در بررسی تغییرات متابولیسم آنتی‌اکسیدانت در برگ‌های جوان و بالغ آرابیدوپسیس در معرض تنش خشکی ملاحظه کرد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌های گیاهان در معرض تنش خشکی نسبت به گیاهان فاقد تنش به طور معنی‌داری بیشتر بود. آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز نقش موازی و مشابهی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می‌نمایند، به طوری که وظیفه هر سه این آنزیم‌ها سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌باشد (آریانو و همکاران ۲۰۰۵). آنزیم پراکسیداز با سم‌زدایی پراکسید هیدروژن و حذف مالون دی‌آلدئید که باعث پراکسیداسیون غشاء می‌شود نقش مهم و کلیدی در محافظت گیاه در برابر تنش ایفا می‌کند (حجتی و همکاران ۲۰۱۱). شکل ۳ ب گویای آن است که کاربرد کود نسبت به عدم استفاده از آن باعث کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید، اگرچه کاهش معنی‌دار، تنها در تیمارهایی مشاهده گردید که در آنها از کود شیمیایی استفاده شده بود. احتمالاً تأمین مناسب و کافی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از طریق استفاده از کودهای شیمیایی و همچنین تأمین تدریجی نیتروژن و فسفر در طی رشد گیاه به واسطه کاربرد کودهای زیستی توانسته با تأمین متعادل عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و تأمین انرژی کافی برای رشد و بقای

گیاه از شدت تنش در گیاه بکاهد و با توجه به کاهش شدت تنش، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز کاهش پیدا کرده است. نادری و همکاران (۲۰۱۳) نیز در بررسی تأثیر کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی بر صفات کمی و کیفی ذرت تحت سطوح تنش خشکی بیان کردند که کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش و عدم تنش خشکی، به ذرت‌های تحت تیمار مصرف توأم کودهای زیستی و شیمیایی تعلق داشت.

پایداری غشای سلولی

بررسی پایداری غشای سلولی در شرایط آزمایشگاه به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک و شیوه‌ای جهت ارزیابی میزان مقاومت به خشکی، به طور وسیعی کاربرد دارد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر سطوح آبیاری و سطوح کودی بر پایداری غشای سلولی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل سطوح آبیاری و کودی بر این صفت، معنی دار نگرید (جدول ۳). مقایسه میانگین صفت پایداری غشای سلولی بیانگر آن است که گیاهان تحت تنش شدید خشکی با میانگین ۲۱/۵۷ درصد، بیشترین آسیب به غشاء و گیاهان تحت تیمار آبیاری کامل با میانگین ۷/۳۶ درصد، کمترین آسیب به غشاء را نشان دادند. به عبارت بهتر، تنش شدید خشکی پایداری غشاء سلولی را حدود ۱۹۳ درصد افزایش داد. در این میان، گیاهان تحت تیمار تنش متوسط نسبت به تنش شدید خشکی صدمات کمتر و در مقایسه با آبیاری مطلوب، آسیب به غشاء بیشتری را نشان دادند (شکل ٤ الف). بهاوار و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تحقیق خود اظهار داشتند که تنش خشکی تأثیر به سزایی روی کاهش پایداری غشای سلولی دارد. تحقیق آنها نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش مقادیر اشکال مختلف اکسیژن فعال و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو و تخریب دیواره سلولی و کاهش پایداری غشاء سلولی در گیاه نخود گردید. از جمله خسارت‌های اکسیداتیو که بر اثر تولید رادیکال‌های اکسیژن ایجاد می‌شود می‌توان خسارت اکسیداتیو به لیپیدها و پروتئین‌ها را اشاره نمود. در واقع گونه های فعال اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدها (چن و همکاران ۲۰۰۰) و از بین رفتن پروتئین‌ها (جیانگ و هانگ ۲۰۰۱) می‌گردند و از این طریق باعث ایجاد خسارت به غشاء سلولی می‌شوند. جباری و همکاران (۲۰۰٦) نیز در مطالعه ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی اظهار داشتند که آسیب به غشاء سبب نشت محتویات سلولی به فضای بین سلولی و در نهایت سبب مرگ سلول می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد (شکل ٤ ب)، گیاهان تحت تیمار عدم مصرف کود با میانگین ۱۵/۲۷ درصد، بیشترین آسیب به غشاء و گیاهان تحت تیمار کود شیمیایی به تنهایی با میانگین ۱۱/۹۹ درصد، کمترین آسیب به غشاء را داشتند. گیاهان تیمار شده با ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی و به دنبال آن گیاهان تحت تیمار کاربرد کود زیستی به تنهایی کمتر از عدم مصرف کود و بیشتر از تیمار کود شیمیایی، آسیب به غشاء را نشان دادند (شکل ٤ ب). احتمالاً، تغذیه مناسب گیاه به ویژه به لحاظ تأمین کافی نیتروژن مورد نیاز گیاه به ویژه برای سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (شکل‌های ۲ ب و ۳ ب) باعث افزایش پایداری غشای سلولی می‌شود. سانوکا و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی اثرات تغذیه گیاهچه‌های علف نیزار با کود نیتروژنه در شرایط تنش خشکی اظهار داشتند گیاهچه‌های تغذیه شده توسط نیتروژن از پایداری غشاء سلولی بیشتری نسبت به گیاهچه‌های تغذیه نشده برخوردار بودند.

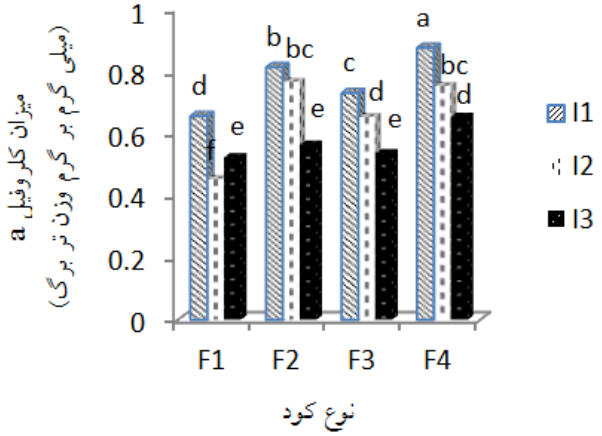


شکل ۴- مقایسه میانگین پایداری غشای سلولی برگ ذرت در سطوح مختلف آبیاری (I1= آبیاری مطلوب، **I2**= تنش متوسط، **I3**= تنش شدید خشکی) (الف) و نوع کود مصرفی (**F1**= شاهد (بدون کود)، **F2**= کود شیمیایی ۱۰۰٪، **F3**= کود زیستی ۱۰۰٪، **F4**= کود زیستی ۱۰۰٪ + ۵۰٪ کود شیمیایی)، (ب) حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

کلروفیل a

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که اثر ساده سطوح آبیاری و سطوح کودی و اثر توأم سطوح آبیاری و کودی در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل a معنی‌دار بوده است (جدول۲). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که گیاهان تحت تیمار آبیاری مطلوب و کاربرد ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی با میانگین ۰/۸۷٦ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ، بیشترین و گیاهان تحت تیمار تنش متوسط و عدم مصرف کود با میانگین ۰/٤٥۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ کمترین میزان کلروفیل a را دارا بودند (شکل ٥). همان طوری که ملاحظه می‌گردد در کلیه سطوح کودی بالاترین میزان کلروفیل a به گیاهان تحت آبیاری مطلوب تعلق داشت. با بروز تنش خشکی، میزان کلروفیل a برگ ذرت کاهش پیدا کرد و در تمامی سطوح کودی به جز در شرایط عدم مصرف کود، با افزایش شدت تنش خشکی، میزان کلروفیل a به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. مقدار کافی آب، احتمالاً در حفظ کلروپلاست و در پی آن در انجام وظایف کلروفیل‌ها مانند جذب و انتقال انرژی مؤثر واقع می‌شود (کلینجر و همکاران ۲۰۱۳). طبق بررسی ها، کاهش غلظت کلروفیل در شرایط خشکی می تواند به دلیل تأثیر تنش خشکی بر تجزیه کلروفیل ها و پراکسیداسیون آنها توسط گونه های فعال اکسیژن باشد (بهاور و همکاران ۲۰۰۹)، چرا که گونه های فعال اکسیژن باعث تخریب لیپید ها، پروتئین ها و رنگیزه های فتوسنتزی می شوند. گنانا و پالیوال (۲۰۱۱) کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی را به کاهش پایداری غشاء کلروپلاست و شکسته شدن آن نسبت داده‌اند. در مقایسه بین سطوح کودی مورد استفاده مشاهده گردید که تقریباً در تمامی سطوح آبیاری، بیشترین میزان کلروفیل a برگ به گیاهان ذرتی تعلق داشت که تحت تیمار ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی قرار داشتند. تحقیقات نشان داده است که در حدود ۷۰ درصد نیتروژن برگ در کلروپلاست‌های آن انباشته می‌شوند و در نتیجه مقدار کلروفیل همبستگی زیادی با مقدار نیتروژن دارد (مجیدیان و همکاران ۲۰۰۷). لذا در بیان علت برتری تیمار ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی می توان اظهار داشت تأمین مناسب، کافی و تدریجی نیتروژن هم از طریق استفاده از کود نیتروژن و هم به واسطه حضور باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در کود زیستی، باعث گردید که گیاه، نیتروژن کافی جهت تولید کلروفیل در اختیار داشته باشد، سایر عناصر مورد نیاز در فتوسنتز و سنتز کلروفیل نیز تا حدود زیادی به واسطه استفاده

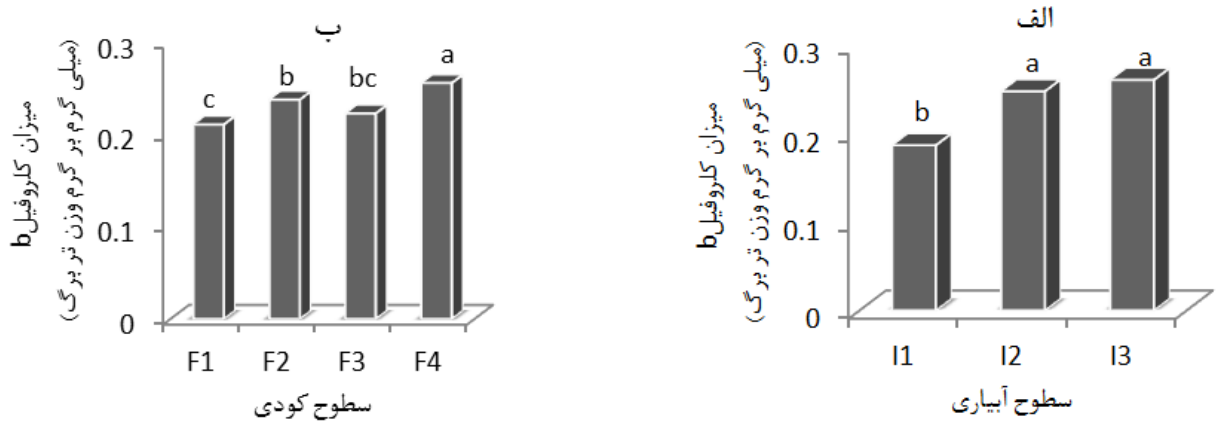
از این کودها تأمین گردید. از طرف دیگر تغذیه مناسب گیاه و اثرات مفید باکتری‌های موجود در کود زیستی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و به تبع آن کاهش اثرات گونه‌های فعال کسیژن در نتیجه استفاده از این ترکیب کودی گردید (شکل ۳ ب). سانچز و همکاران (۱۹۸۲) نیز در مطالعات خود گزارش کردند که تنش خشکی و کمبود نیتروژن باعث کاهش محتوای کلروفیل برگ در ذرت می‌گردد. کمبود نیتروژن در گیاه منجر به زرد شدن (کلروزه شدن) و در نتیجه کاهش رشد گیاه و پیری زود رس می‌شود و به همین دلیل است که میزان کلروفیل گیاه در شرایط عدم مصرف کود از سایر تیمارها کمتر بود.



شکل ۵- مقایسه میانگین میزان کلروفیل a ذرت تحت نوع کود مصرفی (f1= شاهد، f2=کود شیمیایی، f3= کود زیستی، f4=کود زیستی ۵۰٪ کود شیمیایی). حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

کلروفیل b

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میزان کلروفیل b نشان می‌دهد که اثر ساده سطوح آبیاری و سطوح کودی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است (شکل ٦ الف) که بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار تنش شدید و متوسط به دست آمد و کمترین مقدار آن در آبیاری مطلوب حاصل شد. به عبارت بهتر در شرایط تنش، محتوای کلروفیل b بیشتری نسبت به آبیاری مطلوب به دست آمد. در آزمایشی که محمدیان و همکاران (۲۰۰۳) نیز انجام دادند محتوای کلروفیل برگ، تحت شرایط تنش افزایش یافت، که علت افزایش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش، کوچک شدن سلول‌های برگ به علت کاهش سطح برگ و ضخیم شدن سلول‌ها گزارش گردید. در تحقیقی دیگر روی ذرت مشاهده شد که تنش کم آبی موجب کاهش کلروفیل a و کلروفیل کل گردید ولی بر غلظت کلروفیل b تأثیری نداشت (دولت آبادیان و همکاران ۲۰۰۹). مقایسه میانگین اثر سطوح کودی نشان می‌دهد که بیشترین مقدار کلروفیل b در ذرت‌های تحت تیمار ترکیب کود زیستی و شیمیایی به دست آمد و کمترین مقدار آن در تیمار عدم مصرف کود حاصل گردید (شکل ٦ ب). دلیل این تفاوت، میزان نیتروژن در دسترس گیاه می‌باشد چون نیتروژن تأثیر مستقیم و قطعی در ساختمان کلروفیل دارد (اوجاقلو و همکاران ۲۰۰۷)، لذا تأمین کافی نیتروژن از طریق استفاده از کود شیمیایی نیتروژنه و همچنین تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌های تثبیت کننده ازت اتمسفری (کودهای زیستی) باعث افزایش میزان فتوسنتز و همچنین میزان تولید کلروفیل گردید.

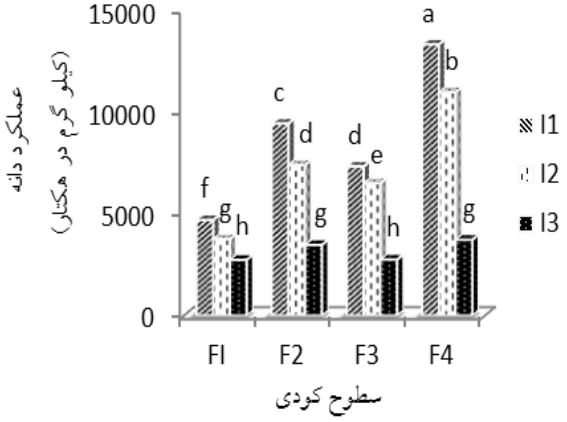


شکل ۶- مقایسه میانگین کلروفیل b در سطوح مختلف آبیاری (I1= آبیاری مطلوب، **I2**= تنش متوسط، **I3**= تنش شدید خشکی) (الف) و نوع کود مصرفی (**F1**= شاهد (بدون کود)، **F2**= کود شیمیایی، **F3**= کود زیستی، **F4**= کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی)، ذرت (ب) حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

عملکرد دانه

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر توأم آبیاری و کود به طور معنی‌داری عملکرد دانه ذرت را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۳). در مقایسه بین تیمارها مشخص گردید که بیشترین عملکرد دانه از گیاهان تحت تیمار تلفیقی کود شیمیایی و کود زیستی و در شرایط آبیاری مطلوب حاصل شد. به طوری که ملاحظه می‌گردد (شکل ۷) در شرایط آبیاری مطلوب و تنش متوسط خشکی، بالاترین عملکرد دانه در ذرت‌های تحت تیمار کاربرد توأم کودهای شیمیایی و زیستی حاصل گردید و گیاهان تحت تیمارهای کود شیمیایی و کود زیستی به تنهایی، در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. کمترین عملکرد دانه در این دو سطح آبیاری، از گیاهان تحت تیمار عدم مصرف کود به دست آمد. در شرایط عدم تنش و تنش متوسط خشکی کاربرد توأم کودهای زیستی و شیمیایی در مقایسه با شاهد بدون کود عملکرد دانه را به ترتیب حدود ۲۵۷ و ۱۹۰ درصد افزایش داد. این برتری کاربرد توأم کودهای زیستی و شیمیایی نسبت به کاربرد کود شیمیایی به تنهای نیز کاملاً محسوس بود. علت بالاتر بودن عملکرد دانه در شرایط آبیاری کامل نسبت به سایر سطوح آبیاری وجود آب کافی در خاک بود که باعث گردید گیاه به خوبی بتواند آب و مواد غذایی مورد نیاز خود را جذب نماید و از رنگیزه‌های فتوسنتزی بالاتر (شکل‌های ۵ و ٦ الف) و در نتیجه، فتوسنتز و ماده سازی بیشتر و به تبع آن رشد و عملکرد بالاتر برخوردار باشد. در شرایط تنش متوسط خشکی، گیاه در شرایطی قرار داشت که وقتی با کمبود آب مواجه می شد می‌توانست از طریق افزایش طول ریشه خود به عمق بیشتری از خاک نفوذ کند و آب لازم را دریافت نماید و همراه آب، مواد غذایی مورد نیاز خود را نیز جذب نماید. چرا که، در این سطح آبیاری، قبل از اینکه گیاه با تنش شدید مواجه شود آبیاری انجام می‌گرفت، بنابراین گیاه از آب و مواد غذایی کافی برای رشد برخوردار بود. به طوری که در شکل ۷ مشاهده می‌گردد عملکرد دانه به دست آمده از ذرت‌های تحت تیمار ترکیبی کودهای شیمیایی و زیستی در شرایط تنش متوسط خشکی به طور معنی‌داری از عملکرد حاصل از ذرت های تحت سایر تیمارهای کودی در کلیه سطوح آبیاری حتی آبیاری کامل نیز برتر بود که این امر اهمیت تغذیه مناسب گیاه به واسطه استفاده از ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی و تأمین تدریجی، مداوم و مطلوب عناصر مورد نیاز گیاه برای رشد گیاه در کنار سایر اثرات مثبت باکتری‌های موجود در کودهای زیستی مورد استفاده در جهت مقابله بهتر با

شرایط نامناسب محیطی را نشان می‌دهد. در شرایط تنش شدید خشکی در مقایسه با تنش متوسط، چون گیاه مدت زمان بیشتری با کمبود آب مواجه بود نمی‌توانست خود را با آن شرایط سازگار کند. وجود کلروفیل و مقدار آن برای فعالیت فتوسنتز، شرط لازم است ولی کافی نیست. فتوسنتز خالص در گیاهان سالم که تحت شرایط معمولی رشد می‌کنند معمولاً در اثر کمبود کلروفیل، کاهش پیدا می‌کند. کمبود کلروفیل در برگ‌هایی که در شرایط کمبود آب و مواد غذایی رشد می‌کنند مشخص گردیده است (سرمدنیا و کوچکی ۱۹۹۳).



شکل ۷- مقایسه میانگین ترکیب تیماری سطوح آبیاری (I1=آبیاری مطلوب، I2= تنش متوسط خشکی، I3= تنش شدید خشکی و نوع کود مصرفی (f1= شاهد، f2=کود شیمیایی، f3= کود زیستی، f4= کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی) برای میزان کلروفیل a (الف) و عملکرد دانه (ب) ذرت. حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

در بیان برتری گیاهان تحت تیمارهای مختلف کودی در مقایسه با شاهد بدون کود می‌توان اظهار داشت وجود عناصر غذایی کافی در کودهای شیمیایی، تأمین تدریجی نیتروژن و فسفر طی رشد گیاه و در زمان توسعه بخش رویشی و زایشی گیاه و همچنین اثرات مفید و مثبت میکروارگانیسم‌های موجود در کودهای زیستی استفاده شده به تنهایی یا توأم با کودهای شیمیایی از عواملی هستند که باعث بهبود رشد گیاه و نهایتاً افزایش عملکرد دانه ذرت گردید. قابل حل شدن فسفات‌های غیر قابل حل توسط میکروارگانیسم‌ها از طریق تولید اسیدهای آلی، کلات کردن و تبادل واکنش‌هایی در محیط رشد ریشه، از اثرات این میکروارگانیسم‌ها در افزایش جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش عملکرد گیاهان زراعی است (زیدی و همکاران ۲۰۰٤). این میکروارگانیسم‌های مفید علاوه بر قابل دسترس کردن فسفر نامحلول خاک برای گیاه، از طریق ترشح مواد محرک رشد از جمله اکسین، جیبرلین و سیتوکنین می‌توانند در افزایش رشد ریشه و جذب بهتر آب و مواد غذایی برای گیاه مؤثر باشند (ستار و گوار ۱۹۸۷).

نتیجه گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش خشکی در گیاه ذرت افزایش یافت، ولی مصرف کود باعث کاهش نسبی فعالیت این دو آنزیم گردید. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی (۱۰۰٪ کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی) توانست در تعدیل اثر تنش خشکی مؤثر باشد، به طوری که استفاده از ترکیب این کودها باعث گردید که عملکرد دانه در ذرت‌های تحت تنش متوسط خشکی در مقایسه با عملکرد دانه ذرت‌های با آبیاری مطلوب که کودی برای

آنها مصرف نگردیده بود به طور معنی‌داری بیشتر باشد. بنابراین در شرایط کمبود آب و یا به منظور افزایش مساحت زمین‌های زیر کشت از طریق کم آبیاری، می‌توان با استفاده از ترکیب کودهای شیمیایی و زیستی، ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی در راستای تولید محصول با امنیت غذایی بیشتر و سالم‌تر، اثرات کمبود آب را نیز تا حدودی تعدیل نمود و محصولات نسبتاً مناسب و با کیفیت مطلوب به دست آورد. لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، تأثیر مثبت کاربرد کود در کاهش اثرات تنش خشکی بر عملکرد گیاه، بیشتر در تنش ملایم خشکی ملاحظه گردید و در شرایط تنش شدید خشکی، استفاده از کود (حتی تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی) نتوانست تأثیر مثبت قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. قاسمی و سیاوشی (۲۰۱۱) در آزمایشی نشان دادند که بیشترین عملکرد دانه در گیاهان تحت شرایط آبیاری مطلوب حاصل گردید و گیاهان تحت شرایط تنش ملایم در رتبه دوم قرار گرفتند. در شرایط آبیاری مطلوب بیشترین عملکرد دانه به تیمارهای مصرف ٤٥ و ٩٠ کیلوگرم کود شیمیایی فسفردار به همراه مصرف کود زیستی تعلق داشت. در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید، گیاهات تحت تیمار تلفیق کود زیستی و مصرف ٤٥ کیلوگرم کود شیمیایی از عملکرد بالاتری نسبت به تیمار کاربرد تنهای کود شیمیایی و زیستی برخوردار بودند. یافته‌های این تحقیق با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مطابقت دارد. دادرسان و همکاران (٢٠١٦) نیز در بررسی اثر کاربرد کودهای زیستی، شیمیایی و ترکیب آنها بر عملکرد شنبلیله نشان دادند که استفاده توأم از کود زیستی+ ٥٠ درصد کود شیمیایی بیشترین تأثیر مثبت را بر عملکرد دانه و علوفه شنبلیله داشت.

منابع مورد استفاده

Akhtar MS and Siddiqui ZA, 2009. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and Rhizobium sp on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition. African Journal Biotechnol, 8(15): 3489-3496.

Anjum ShA, Xie X-y, Wang L-ch, Saleem MF, Man Ch and Lei W, 2011. A review. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. Journal of Agricultural Research, 6(9): 2026-2032.

Ariano S, Bartolomeo D, Cristos X and Andras M, 2005. Antioxidant defenses in Olive trees during drought stress changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology, 32: 45-53.

Arron DI, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in Beta Vulgaris. Plant Physiology 24: 1-15.

Auge RM, 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhizae, 11: 3-42.

Bahavar N, Ebadi A, Tobeh A and Jamati Somarin SH, 2009. Effects of nitrogen application on growth of irrigated chickea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress in hydroponics conditions. Research Journal of Environmental Sciences, 3(4): 448 – 455.

Barbara EK, Nora LE and Edith S, 2014. Compartment specific response of antioxidants to drought stress in Arabidopsis. Plant Science, 227: 133-144.

Bates LS, Waldern RP and Teave ID, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Blum A and Ebercon A, 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Sciences, 21: 43-47.

Bradford KJ, 1994. Water stress and the water relation of seed development, a critical review. Crop Science, 34: 1-11.

Chance B and Maehly AC 1995. Assay of catalase and peroxidase Pp. 764-791. In: Colowick SP and Kaplan ND (eds). Methods in enzymology. Academic press New York.

Chen WP, Li PH and Chen THH, 2000. Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. Plant Cell Environment, 23: 609-618.

Cakir R, 2004. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn Field Crops Research, 89. 1–16.

Dadrasan M, Chaichi MR, Pourbabaee AA, Yazdani D and Keshavarz-Afshar R, 2016. Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of fenugreek. Industrial Crops and Products, 77: 156-162.

Dovlat Abadian A, Modarres sanavy SAM and Sharifi M, 2009. The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under salt stress conditions. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 13(47): 611-620. (In Persian)

Fariduddin Q, Varshney P, Yusuf M and Ahmad A, 2013. Polyamines: potent modulations of plant responses to stress. Journal of Plant Interactions, 8: 1-16.

Ghasemi C, Siavoshi K, Choukan R, Khavasi K and Rahmani A, 2011. Effect of biological phosphate fertilizer on grain yield and its components in corn 704 single cross (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. Seed and Plant Production Journal. 27-2(2): 219-233. (In Persian).

Gnaana S and Paliwal K, 2011. Drought induced changes in growth, leaf gas exchange and biomass production in Albizia lebbeck and *Cassia siamea* seedlings. Journal Environmental Biology, 32: 173-178.

Hassegawa, RH, Fonseca H, Fancelli AL, da Silva VN, Schammass EA, Reis TA and Correˆa B, 2008. Influence of macro-and micro nutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in corn grains. Food Control, 19: 36-43.

Hojati M, Modarres-Sanavy A M M, Karimi M and Ghanati F, 2011. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. Acta Physiologia Plantarum, 33: 105-112.

Jabari F, Ahmadi A, Poustini K and Alizadeh H, 2006. Relationship between some antioxidant enzymes activities of and cell membrane and chlorophyll stability in dtrought- tolerant and susceptible bread wheat cultivars. Iranian Journal of Agricultural Science. 2(37): 307-316.(In Persian).

Jiang Y and Huang B, 2001. Drought and heat stress injury to two coll-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.

Jung S, 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of Arabidopsis thaliana subjected to drought. Plant Science, 166: 459-466.

Kennedy IR, Choudhury MA and Kecskes ML, 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited. Soil Biology Biochemistry, 36: 1229-1244.

Khan S, Bano A, Ud-din J and Gurmani A, 2012. Abscisic acid and salicylic acid seed treatment as potent inducer of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Botany, 44: 43-49.

Kirkham MB, 2016. Elevated carbon dioxide: impacts on soil and plant water relations. Boca Raton, FL: CRC Press.

Klynger da Silva Lobato A, Maria Silva Guedes E, Jose Marques D and Ferreira de Oliveira Neto C, 2013. Silicon: A benefic element to improve tolerance in plants exposed to water deficiency, Pp. 95-113.

Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernard S and Foyer CH, 2005. Drought controls on H2O2 accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. Jornal of Experimental Botany, 56: 417–423.

Mahfouz SA and Sharaf-Eldin M.A, 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). International Agrophysics, 21: 361-366.

Majidian A, Ghalavand M, Haghighati A and Karimian A, 2007. Translation errorEffect of drought stress, chemical fertilizer and organic fertilizer at different growth stages on agronomic characteristics of corn. Proceedings of the 2th National Conference on Ecology. (In Persian).

Mak Adam JW, Nelson CJ and Sharp RE, 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tallfescue. Plant Physiology, 99: 872-878.

Mirhadi MJ, 2001. Translation errorCorn. Research Organization Publication. Agricultural Research, Extension and Education Organization Publication. Pp: 214. (In Persian).

Mohamed A and Ahmed L, 2010. Response of wheat cultivars to drought and salicylic acid. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 3: 01-07.

Mohammadian R, Rahimian H, Moghaddam M and Sadeghian SY, 2003. Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6(20): 1763-1769.

Naderi T, Sohrabi Y and Heidari Gh, 2013. Translation errorEffects of biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative traits of corn (*Zea mays* L.) under drought stress. MSc. Thesis University of Kurdistan. (In Persian)

Ojaghloo F, Farah F, Hassanzadeh ShA and Javanshir, A, 2007. Effect of inoculation with azotobacter and barvar 2 phosphate biofertilizers on safflower yield. Journal of Agricultural Science, Islamic Azad University, Tabriz Branch. 1(3): 5-39. (In Persian).

Omar MNA, Osman MEH, Kasim WA and Abd El-Daim L A, 2009. Improvement of salt tolerance mechanisms of barley cultivated under salt stress using *Azospirillum brasilense*. Pp: 133.

Patade VY, Bhargava S and Suprasanna P, 2011. Salt and drought tolerance of sugarcane under iso-osmotic salt and water stress: growth, osmolytes accumulation, and antioxidant defense. Journal of Plant Interactions, 6: 275-282.

Pirasteh Anousheh H, Emam Y and Jamali Ramin F, 2010. Comparative effect of biofertilizers with chemical fertilizers on sunflower (*Helianthus annuus* L.) growth, yield and oil percentage in different drought stress levels. Journal of Agroecology. 2(3): 492-501. (In Persian).

Poure smaeil P, Habibi D and Mashhadi Akbar Boojar M, 2006. The study of using water super absorbent polymer on increasing yield and antioxidant enzyme activities in different cultivars of red bean under drought stress. MSc thesis Islamic Azad University, Karaj Branch. (In Persian).

Saeidi M, Moradi F, Ahmadi A, Spehri R, Najafian G and Shabani A, 2010. The effects of terminal water stress on physiological characteristics and sink-source relations in two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Iranian Journal of Crop Science, 12(4): 392-408.

Sanchez RA, Hall AJ, Trapani N and Cohen de hunau R, 1982. Effect of water stress on chlorophyll content, nitrogen level and photosymthesis of levels of two maize genotypes. Photosynthesis Research, 4:35-47.

Saneoka H, Moghaieb R E A, Premachandra GS, and Fujita K, 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. Environmental and Experimental Botany, 52:131–138.

Sarmadnia Gh and Koocheki A, 1993. Crop Physiology. (Translated). publication of Jahad-e daneshgahi of Mashhad. .(In Persian).

Sattar MA and Gaur AC, 1987. Production of auxins and gibberellins by phosphate dissolving microorganisms. Zentrabl Mikrologie 142: 393-395.

Sepehri M, 2005. Translation errorEffects of end season drought stress on the relationships between source and sink in four varieties of wheat. MSc. Thesis Islamic Azad University of Boroujerd. Pp. 1-27. (In Persian).

Tiercelin JR and Vidal A, 2006. Traite´ d'Irrigation, 2nd edition. Lavoisier edition.

Turhan H and Baser I, 2004. In vitro and In vivo water stress in sunflower (*Helianthus annus* L.). Helia, 27(40): 227- 236.

Ulger AC, Ibrikci H, Cakir B and Guzel N, 1997. Influence of nitrogen rates and row spacing on corn yield protein content, and other plant parameters. Journal Plant Nutrition, 20: 1697-1709.

Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC and Wong MH, 2005. Effect of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial Geoderma 125: 155-166.

Zaidi, PH, Rafique SN, Singh N and Srinivasan G, 2004. Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.) under excessive soil moisture stress. Field Crops Research, 90: 189-202.