نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۴، شماره ۲ ، تابستان ۱۳۹۵، ص. ۳۱۷-۳۰۴

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 14, No. 2, Summer. 2016, p. 304-317

بررسی اثر حاصلخیزکننده‌های مختلف فسفر بر خصوصیات فیزیولوژیکی رنگدانه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول در گلرنگ تحت شرایط کمبود آب

سیاوش حشمتی[۱]- مجید امینی‌دهقی[۲*]- علیرضا رضازاده[۳]- کیوان فتحی امیرخیز[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۱۸

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کاربرد حاصلخیزکننده‌های مختلف آلی و شیمیایی فسفر بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی رقم گلرنگ بهاره (IL111) در تنش خشکی آزمایشی به‌صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه‌تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ اجرا گردید. عامل اصلی شامل تنش خشکی در سه‌سطح: آبیاری کامل یا بدون تنش (آبیاری بر اساس تخلیه ۵۰درصد رطوبت ظرفیت‌زراعی)، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی (آبیاری بر اساس تخلیه ۷۵درصد رطوبت ظرفیت‌زراعی) و تنش در مرحله زایشی (آبیاری بر اساس تخلیه ۷۵درصد رطوبت ظرفیت‌زراعی) و عامل فرعی به‌صورت فاکتوریل شامل شش‌تیمار که سه سطح آن کود شیمیایی فسفر با مقادیر (صفر، ۵۰ و ۱۰۰کیلوگرم سوپرفسفات‌تریپل در هکتار) و کود زیستی فسفر بارور-۲، در ۲سطح (تلقیح و بدون‌تلقیح با بارور۲) بود. بررسی صفات موردمطالعه نشان‌داد که با اعمال تنش در مرحله رشد رویشی و زایشی، بیش‌ترین مقدار کلروفیلa، b و کلروفیل کل در تیمار به‌کارگیری کود زیستی فسفر بارور۲ با مصرف ۱۰۰کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی فسفر بود. در سطح تنش زایشی، مصرف بالای کود فسفر در تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی فسفر بارور۲، بیش‌ترین تأثیر را در افزایش نسبت کلروفیلa به b داشت. اما در تیمار تلقیح کود زیستی، بیش‌ترین میزان نسبت کلروفیلa به b از کم‌ترین سطح کودی فسفر به میزان ۵۰کیلوگرم در هکتار فسفر حاصل‌شد. مقایسه میانگین‌ها نشان‌داد که بیش‌ترین مقدار کاروتنوئیدها، fv/fm، آنتوسیانین، فلاونوئیدها و قندهای محلول در تیمار بدون کودزیستی فسفر بارور ۲ از مصرف ۵۰کیلوگرم فسفر در هکتار در شرایط تنش رویشی و زایشی بدست آمد. در سطح تنش در مرحله زایشی، تلقیح کود زیستی همراه با مصرف ۵۰کیلوگرم در هکتار کود فسفر، میزان آنتوسیانین و قندهای محلول برگ را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. درحالی‌که مقدار کاروتنوئید و فلاونوئیدها در تیمار به‌کارگیری کود زیستی بدون‌استفاده از کود فسفر افزایش داشت. در مجموع نتایج این تحقیق نشان‌داد که کاربرد کود زیستی به‌همراه کود فسفر، نقش مؤثری در افزایش صفات موردمطالعه گلرنگ در شرایط تنش خشکی داشته‌است.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، تنش خشکی، کارآیی فتوسیستم۲، کلروفیل، کود زیستی فسفر بارور۲

مقدمه

غلظت کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Jiang and Huang, 2001). حفظ غلظت کلروفیل تحت‌شرایط تنش به‌ثبات فتوسنتزی در این‌شرایط کمک می‌کند (Bishop and Bughee, 1998). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی به‌عنوان یک عامل محدودکننده غیرروزنه‌ای به‌حساب آید (Behra *et al.,* 2002). به‌نظر می‌رسد که دلیل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش آبی، تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آن‌ها و هم‌چنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (Voleti *et al.,* 1998). یکی دیگر از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل، تخریب آن‌ها به‌وسیله انواع اکسیژن‌فعال می‌باشد (Navari-Izoo *et al.,* 1990). کاهش در محتوای کلروفیل در گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) نیز تحت تنش خشکی گزارش شده‌است (Jaleel *et al.,* 2008). هم‌چنین نشان داده‌شده که محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در ارقام گلرنگ تحت تنش آب کاهش یافت (Abdul Jaleel *et al.,* 2007).

عمل هماهنگ آنتی‌اکسیدانت‌هایی با وزن‌مولکولی کم مانند آنتوسیانین‌ها، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها می‌توانند به‌طور

۱- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
۳- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
(*- نویسنده مسئول: Email: amini@shahed.ac.ir)

مؤثری خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد مضر باشند و بدین‌طریق سبب پایداری اکسیداسیون لیپیدها شوند (Basu *et al.*, 2010). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی هستند، این ترکیبات نه‌تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌ببرند، بلکه از تولید بیش‌تر آن‌ها در گیاه نیز جلوگیری می‌کنند (Nasibi and Kalantari, 2005). فلاونوئیدها به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدانت به‌واسطه تعدادی از گروه‌های هیدروکسیل که در حلقه‌های ساختاری خود دارند، انواع اکسیژن‌فعال را پاک‌سازی می‌کنند و توانایی آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت بستگی به پتانسیل احیاء رادیکال‌ها و دست‌یابی به آن‌ها دارد (Rice-Evans, 2001). آنتوسیانین‌ها نیز هم از ساختارهای حساس مانند غشاءها حفاظت می‌کنند و هم از زوال کلروفیل جلوگیری می‌کنند (Leng *et al.*, 2000). بنابراین گیاهانی که در بافت‌شان آنتوسیانین دارند، اغلب مقاوم به‌خشکی هستند (Paine *et al.*, 1992). دسته دیگری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی محلول در سلول‌های گیاهی کاروتنوئیدها می‌باشند، این ترکیبات نیز از مسیر غیرآنزیمی در جهت کاهش خسارت اکسیداتیو بر گیاه عمل می‌کنند، کاروتنوئیدها، تتراترپن‌های ۴۰کربنه‌ای هستند که در کلروپلاست بافت‌های گیاهی حضور داشته و در تنش‌های محیطی محرک تنش اکسیداتیو در گیاه، حفاظت از بافت‌های فتوسنتزی به‌خصوص کلروفیل‌ها را برعهده دارند (Candan and Tarhan, 2003). خشکی علاوه‌بر کاهش در محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی، موجب آسیب و تغییرات در پارامترهای فلورسانس‌کلروفیل می‌شود (Mohsenzadeh *et al.*, 2006). فلورسانس‌کلروفیلa می‌تواند معیاری از کارایی فتوسنتزی باشد و اطلاعاتی در مورد ارتباط بین ساختار مرکز واکنش در فتوسیستمII و هسته مرکزی فراهم‌کند (Papageorgiou and Govindjee, 2004). در مطالعه‌ای که بر روی گلرنگ انجام‌شده، نشان داده‌شده که تنش خشکی حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستمII را کاهش می‌دهد (Miladi Lari and Ehsanzadeh, 2010). افزایش تجمع محافظت‌کننده‌های اسمزی ممکن است از گیاهان در برابر آسیب‌ها حفاظت کنند و به‌حفظ ساختار پروتئین‌ها و یا به پاک‌سازی انواع اکسیژن‌فعال در کنار حفظ تعادل در پتانسیل اسمزی در سیتوزول کمک‌کنند (Parvanova *et al.*, 2004). به‌طوری‌که سنتز قندهای محلول تحت‌شرایط خشکی افزایش می‌یابد (De Carvalho, 2005). این‌مواد می‌توانند به‌عنوان محافظت‌کننده‌های اسمزی واکنش دهند و منبعی از کربن برای حفظ بقای گیاهان در طی دوره‌های تنش آبی باشد (Chaves *et al.*, 2003).

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر معدنی ضروری برای رشد گیاهان بعد از نیتروژن است. اگرچه قابلیت‌دسترسی به‌این ماده غذایی برای گیاهان توسط واکنش‌های شیمیایی مختلف، به‌ویژه در خاک‌های خشک و نیمه‌خشک محدود می‌شود (Mehrvarz and Chaichi, 2008). میکروارگانیسم‌های خاک در ایجاد تعادل و حفظ پایداری اکوسیستم نقش مهمی برعهده دارند. بنابراین استفاده از کودهای زیستی یکی از راه‌کارهای مؤثر در حفظ کیفیت مطلوب خاک محسوب می‌گردد که باعث افزایش واکنش‌های مفید بین گیاه و میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر شده و توان گیاه را برای جذب بیش‌تر عناصرغذایی افزایش می‌دهد (Kokalis-Buerelle *et al.*, 2006). هم‌چنین تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های مفید بومی، ممکن‌است تحمل به خشکی گیاهان رشدیافته در مناطق خشک و نیمه‌خشک را افزایش دهد (Marulanda *et al.*, 2007). به‌طوری‌که گزارش شده‌است که تلقیح گیاهان با باکتری سودوموناس می‌تواند اثرات خشکی را جبران‌کرده و نمو گیاه را به‌واسطه تولید پرولین، اسیدهای‌آمینه، قندهای محلول بهبود دهند، زیرا آن‌ها آب و موادغذایی را از خاک بهتر جذب می‌کنند (Sandhya *et al.*, 2010). کود زیستی فسفر بارور۲ حاوی دو نوع باکتری حل‌کننده فسفات از گونه‌های باسیلوس‌لنتوس (سویهP5) و سودوموناس‌پوتیدا (سویهP13) می‌باشد که به‌ترتیب بااستفاده از دو سازوکار ترشح اسیدهای آلی و اسیدفسفاتاز باعث تجزیه ترکیبات فسفره نامحلول و در نتیجه قابل‌جذب‌شدن آن برای گیاه می‌گردند (Malbubi, 2007). گزارشات مبنی‌بَر این‌است‌که کود زیستی نیتروکسین، بیوسولفور و فسفات بارور۲ از طریق کمک به‌جذب نیتروژن، فسفر و گوگرد و نقشی که این عناصر در تولید کلروفیل و تأمین آنزیم‌های موردنیاز گیاه دارند، باعث افزایش میزان بافت‌های فتوسنتزی در گیاهان می‌شوند (Darzi, 2007). هم‌چنین تحقیقات نشان داده‌است که در اثر تلقیح باکتریایی بر گیاه آفتابگردان، میزان رنگدانه‌های کلروفیل aو bقبل و بعد از گلدهی افزایش‌یافته و در نتیجه تولید انرژی و در نهایت رشد آفتابگردان در تیمار کود زیستی نسبت به تیمار کنترل (عدم‌تلقیح) بیش‌تر بوده‌است (Marius *et al.*, 2005). گلرنگ یکی از گیاهان روغنی و بومی کشور است. وجود انواع تیپ‌های وحشی که در سراسر کشور پراکنده‌اند، نشان از سازگاری خوب این گیاه با شرایط آب‌وهوایی ایران دارد، تحمل نسبی به شوری خاک و خشکی هوا و هم‌چنین دارابودن روغنی با کیفیت بالا، از مشخصات بارز این گیاه است (Ahmadi and Omidi, 1996).

بنابراین هدف از این تحقیق، بررسی اثر کودهای شیمیایی و زیستی فسفر بر روی رنگدانه‌های فتوسنتزی و کارآیی فتوسنتز تحت شرایط تنش خشکی بر روی گلرنگ بوده‌است تا با شناسایی سازوکارهای مؤثر در مقابله با تنش ، بتوان اثرات‌سوء ناشی از تنش خشکی را در این گیاه دانه‌روغنی کاهش داد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعهٔ پژوهشی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شاهد

در عرض‌جغرافیایی ۳۵درجه و ۳۳دقیقهٔ شمالی و ۵۱درجهٔ شرقی واقع در ابتدای آزاد راه تهران–قم در سال زراعی ۹۱–۱۳۹۰ انجام‌گرفت. میانگین بارندگی سالانه در این منطقه، ۲۳۸/۹ میلی‌متر، با میانگین درجه حرارت سالانه ۱۷/۷درجهٔ سانتی‌گراد است. بافت خاک در عمق ۳۰–۰سانتی‌متری از نوع لومی و در عمق ۶۰–۳۰سانتی‌متری از نوع لومی–رسی، میزان فسفر قابل‌جذب ۱۰ppm، نیتروژن کل ۰/۰۸۹درصد بود. آزمایش مزرعه‌ای به‌صورت اسپلیت–فاکتوریل با عامل تنش خشکی در سه‌سطح: آبیاری کامل یا بدون‌تنش (آبیاری پس از تخلیه ۵۰درصد رطوبت ظرفیت‌زراعی قطع آبیاری در مراحل رشد رویشی و زایشی (آبیاری پس از تخلیه ۷۵درصد رطوبت ظرفیت‌زراعی) در کرت اصلی است. عامل فرعی شامل شش‌تیمار که عبارت‌اند از کود شیمیایی فسفر در سه‌سطح (صفر ، ۵۰ و ۱۰۰کیلوگرم سوپرفسفات‌تریپل در هکتار) و کود زیستی فسفر بارور۲ در دو سطح (تلقیح و عدم‌تلقیح بذر با کود زیستی فسفر بارور۲) که به‌صورت فاکتوریل، عامل فرعی را تشکیل می‌دادند. کود زیستی مورداستفاده در این آزمایش، با نام تجاری فسفر بارور۲، از شرکت زیست‌فناور سبز تهیه‌گردید. هم‌چنین کاربرد کود زیستی فسفر بارور۲ به‌صورت بذرمال، به‌میزان ۱۰لیتر در هکتار استفاده‌شد. قبل از کاشت نیز بر اساس نتایج تجزیه‌شیمیایی خاک، کود نیتروژن از منبع اوره به‌مقدار ۱۵۰کیلوگرم در هکتار به‌خاک داده‌شد. بذر گلرنگ رقم IL-111 از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کشور تهیه‌شد. عملکرد این رقم در شرایط بدون‌تنش ۸۰۴/۰۵کیلوگرم در هکتار و در شرایط تنش خشکی، ۶۲۰/۷۸کیلوگرم در هکتار گزارش گردیده‌است که دارای شاخص تحمل به تنش (STI = ۱/۱۹) و شاخص حساسیت به تنش (SSI = ۰/۷۰) می‌باشد (Zarghami *et al.*, 2011). مراحل رشد از نظر زمان اعمال تیمارهای آبیاری، تعیین‌گردید (Allen *et al.*, 1998). بر این اساس، در طول مرحلهٔ رویشی، ۷۰ تا ۸۰روز از زمان کاشت (Vb) تا انتهای مرحلهٔ رویشی تأخیری (مرحلهٔ طبق‌دهی)، آبیاری کرت‌هایی که باید در این‌مرحله تحت شرایط تنش قرار می‌گرفت بر اساس تخلیهٔ ۷۵درصد رطوبت ظرفیت‌زراعی خاک انجام‌گرفت، از آن به‌بعد هم با شروع مرحلهٔ گل‌دهی تقریباً به‌میزان ۵۰درصد (F) تا مرحلهٔ تشکیل عملکرد و پُرشدن دانه (Y) آبیاری در کرت‌های تنش خشکی، پس از اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و رسیدن رطوبت خاک به ۷۵درصد تخلیهٔ رطوبت ظرفیت‌زراعی انجام‌گرفت. اندازه‌گیری رطوبت خاک به‌روش وزنی انجام‌شد (Alizadeh, 2011). به‌منظور بررسی تأثیر تنش رطوبتی بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، در انتهای مرحله گل‌دهی پس از اعمال تنش، از هر تیمار نمونه‌گیری از جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته تهیه و در نیتروژن‌مایع قرار داده‌شدند. سپس تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۸۰–درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در همین‌مرحله، از دو برگ هم‌سان بر روی دو بوته ، میزان فلورسانس‌کلروفیل با‌استفاده از دستگاه PSM (مدل بیومانتور AB ساخت کشور سوئد) قرائت‌شد. بدین‌منظور ابتدا در حدود نیم‌ساعت بااستفاده از گیره‌های مخصوص دستگاه، سازگاری به‌تاریکی بر روی برگ‌ها انجام‌گرفت. اندازه‌گیری محتوی کلروفیل و کاروتنوئید با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-1601PC مدل Shimadzu, Japan در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰نانومتر قرائت و غلظت رنگدانه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تَر برگ محاسبه‌گردید (Lichtenthaler, 1987). سنجش فلاونوئیدها در سه‌طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و برای محاسبه غلظت، از ضریب‌خاموشی $\varepsilon= ۳۳۰۰ mol^{-1}cm^{-1}$ استفاده و به‌صورت جذب در میلی‌گرم وزن تَر برگ بیان‌گردید (Krizek *et al.*, 1993). هم‌چنین غلظت آنتوسیانین نیز براساس میزان جذب در ۵۵۰نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و برای محاسبه غلظت آنتوسیانین، از ضریب‌خاموشی ($\varepsilon=۳۳۰۰ mol^{-1}cm^{-1}$) استفاده و به‌صورت میکرومول در گرم وزن تَر برگ بیان‌گردید (Krizek *et al.*, 1993). برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل نمونه‌های منجمد به‌میزان ۰/۲گرم در سه‌میلی‌لیتر آب‌مقطر عصاره‌گیری شده و سپس محلول همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف شد. برای اندازه گیری قند نمونه، به ۵۰میکرولیتر از همگن صاف‌شده ۰/۵ میلی‌لیتر فِنُل پنج‌درصد و ۲/۵میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸درصد اضافه‌گردید. بلافاصله بعد از افزودن اسیدسولفوریک، یک‌واکنش گرمازا همراه با تولید رنگ نارنجی ایجاد می‌شود که تولید حرارت زیادی می‌کند. لذا ضروی‌است بعد از افزودن اسید، مخلوط واکنش ۱۰دقیقه در دمای اتاق خنک شود. منحنی استاندارد بااستفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز، زایلوز و مانوز از ۰ تا ۲۰میکروگرم در میلی‌لیتر ترسیم‌شد، جذب استانداردها به‌همراه جذب نمونه بااستفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در سه طول‌موج ۴۸۰، ۴۸۵ و ۴۹۰نانومتر برای سنجش گلوکز، زایلوز و مانوز اندازه‌گیری شد و مقدار قند نمونه، بر مبنای میکروگرم بر گرم وزن تازه برگ تعیین‌گردید (Duboiset *al.*, 1956). به‌منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 استفاده‌شد. مقایسهٔ میانگین‌ها نیز بااستفاده از روش برش‌دهی اثر متقابل (LSMEANS) توسط دستور PDIFF انجام‌شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان‌داد که اثرات ساده سطوح کود شیمیایی فسفر و کود زیستی فسفر بارور۲ و هم‌چنین برهم‌کنش سطوح آبیاری و کود شیمیایی فسفر، سطوح آبیاری و کود زیستی فسفر بارور۲، کود شیمیایی فسفر و کود زیستی فسفر بارور۲ و اثر سه‌جانبه تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی فسفر و کود زیستی فسفر بارور۲، بر تمامی صفات مورد اندازه‌گیری، معنی‌دار شد (جدول ۱).

نتایج حاصل از آزمایش نشان‌داد در سطح تنش رویشی، در تیمار عدم کاربرد کود زیستی، بین تیمارهای کودی فسفر از نظر میزان کلروفیلa اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما مصرف ۱۰۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار همراه با کود زیستی سبب افزایش مقدار کلروفیلa شد. هم‌چنین مشاهدات نشان‌داد در هر دو سطح کود زیستی با افزایش کود فسفره، در شرایط تنش زایشی، میزان کلروفیلa در تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی ۸۴درصد و در تیمار به‌کارگیری کود زیستی ۱۰۴/۸ در مقایسه با شاهد (عدم مصرف کود فسفر) افزایش داشت و کم‌ترین مقادیر کلروفیلa در سطح تنش زایشی، در سطح کود زیستی با عدم مصرف کود فسفر حاصل‌شد (جدول ۲). میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Jiang and Huang, 2001). هم‌چنین بیان‌شده که دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک مقاومت به تنش است (Pessarkli, 1999). به‌نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیلa در اثر تنش خشکی به‌علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون کلروفیل (Wise and Naylor, 1989) و درنتیجه تجزیه این رنگیزه می‌گردد (Schutz and Fangmeir, 2001). بنابراین مصرف کود شیمیایی فسفره در شرایط تنش خشکی همراه با تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات (بارور۲) و بدون آن موجب افزایش میزان کلروفیلa گردیده‌است. بنابراین حفظ غلظت کلروفیل تحت‌شرایط تنش به‌ثبات فتوسنتزی در این شرایط کمک می‌کند.

نتایج آزمایش نشان‌داد که در تیمار تنش در مرحله رویشی، بیش‌ترین غلظت کلروفیلb با ۲/۹۸میلی‌گرم در گرم وزن تَر برگ، در تیمار عدم تلقیح با کود زیستی فسفات بارور۲ از تیمار ۵۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار عدم مصرف کود فسفر نداشت و بیش‌ترین این صفت در تیمار کاربرد کود زیستی با مصرف ۱۰۰کیلوگرم فسفر در هکتار با ۴/۲۱میلی‌گرم در گرم وزن تَر برگ حاصل‌شد که با تیمار شاهد، در یک‌گروه آماری قرارگرفتند و با افزایش میزان کود مصرفی فسفر از ۵۰ به ۱۰۰کیلوگرم مقدار کلروفیلb حدود ۲۲۸درصد افزایش‌یافت ودر شرایط تنش زایشی و تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی فسفات، میزان کلروفیلb با مصرف ۱۰۰کیلوگرم کود شیمیایی فسفر نسبت به تیمار شاهد، ۳۳/۹درصد افزایش نشان‌داد. نتایج آزمایش هم‌چنین نشان‌داد که تحت شرایط تنش زایشی، در تیمار تلقیح‌شده با کود زیستی همراه با مصرف ۱۰۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف کود فسفر) کلروفیلb را به‌میزان ۱۱۵/۴درصد افزایش داد (جدول ۲). کم‌بود آب سبب آسیب به‌رنگدانه و پلاستیدها می‌گردد، کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش گزارش شده‌است (Castrillo and Turujillo, 1994). به‌نظر می‌رسد که این کاهش در کلروفیلb بیش‌تر باشد (Kulshreshtha *et al.*, 1987). هم‌چنین گزارش‌شده که اعمال تنش خشکی غلظت کلروفیلa را به‌طور متوسط در حدود ۳۵درصد و کلروفیلb را ۳۸درصد کاهش داده‌است (Siosemardeh *et al.*, 2003). بنابراین باتوجه به یافته‌های این تحقیق به‌نظر می‌رسد که کاربرد بیش‌ترین سطوح کود شیمیایی فسفر همراه با تلقیح باکتری و هم‌چنین بدون‌تلقیح توانسته‌است غلظت کلروفیلb را تحت‌شرایط تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی به‌طور معنی‌داری افزایش دهد.

مقایسه میانگین‌ها نشان‌داد که در تیمارهای تنش در مرحله رویشی و عدم‌تلقیح با کود زیستی فسفر بارور۲، تمامی تیمارهای کود فسفر موجب افزایش معنی‌دار مجموع کلروفیل شدند. مقایسه میانگین‌ها نشان‌داد که تحت‌شرایط کم‌آبی در مرحله رویشی، در تیمار تلقیح با کود زیستی، مجموع کلروفیل با مصرف ۱۰۰کیلوگرم فسفر در هکتار به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت (جدول ۲). نتایج این آزمایش نشان‌داد در شرایط کم‌آبی در مرحله زایشی، با افزایش کود شیمیایی فسفر در هر دو تیمار کود زیستی فسفاته، میزان کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.کاهش مجموع کلروفیل در آفتابگردان تحت تنش آب گزارش شده‌است (Manirannan *et al.*, 2007). شواهدی دردست است مبنی برآن‌که تنش آبی میزان کلروفیل برگ را کاهش می‌دهد.

پایداری کلروفیل به‌عنوان یک معیار مقاومت به خشکی برای ارقام پیشنهاد شده‌است (Siosemardeh *et al.*, 2003). به‌نظر می‌رسد افزایش مجموع کلروفیل در شرایط تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی، تحت‌تأثیر کاربرد کود شیمیایی فسفره همراه با تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات بارور۲ و هم‌چنین بدون‌تلقیح باکتری نمایان‌گر افزایش توانایی گیاه گلرنگ جهت تحمل به‌شرایط تنش خشکی باشد. هم‌چنین بیان‌شده که محتوای کلروفیل در تمام تیمارهای تلقیح‌شده با سویه‌های باکتری‌های حل‌کننده فسفات[1] (PGPR) در شرایط تنش شوری، به‌طور معنی‌داری افزایش داشته‌است (Han and Lee, 2005).

در این آزمایش، در سطح کودی ۱۰۰کیلوگرم فسفر در هکتار در تیمار بدون‌استفاده از کود زیستی فسفر بارور۲ تحت شرایط تنش کم‌آبی در مرحله زایشی، بیش‌ترین نسبت کلروفیلa/b مشاهده‌شد. اما در تیمار کود زیستی فسفر بارور۲، با کاهش ۵۰کیلوگرم کود فسفر بیش‌ترین تأثیر را در افزایش نسبت کلروفیلa/b داشت. هرچند بین سطوح مختلف فسفر در تیمار کود زیستی فسفر بارور۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده‌نشد (جدول ۲). تنش خشکی در نسبت کلروفیلa به b وکاروتنوئیدها تغییراتی ایجاد می‌کند (Farooq *et al.*, 2009).

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کود شیمیایی و زیستی فسفر بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، کارایی فتوسیستمII و قندهای محلول برگ گلرنگ، تحت شرایط کم‌بود آب

Table 1- Analysis of variance for effect of different phosphorus fertilizers on photosynthetic pigment, fv/fm and soluble sugars of safflower under water deficit condition

			میانگین مربعات Mean squares						
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	کلروفیلa Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کلروفیلb به a Chlorophyll a/b	کاروتنوئید Carotenoids	آنتوسیانین Anthocyanin	کارآیی فتوسیستمII fv/fm
Replication (R)	بلوک (R)	2	0.179	0.146	0.028	0.003	0.0069	0.058	0.11
Water Stress (A)	تنش (A)	2	0.628*	2.348**	5.156**	0.036*	1.0096**	1.78**	0.83*
Error a	خطای a	4	0.059	0.067	0.057	0.002	1.0027	0.020	0.076
Phosphorus (B)	فسفر شیمیایی (B)	2	1.365**	0.377*	3.204**	0.086**	0.452**	0.55**	1.59**
Barvar-2 (C)	بارور ۲ (C)	1	0.542**	0.596*	3.109**	0.056**	0.0700**	0.15**	1.61**
A*B	تنش× فسفر	4	4.640**	3.534**	17.326**	0.123**	1.269**	0.25**	1.88**
A*C	تنش × بارور۲	2	0.991**	0.680**	4.188**	0.010^{ns}	0.289**	0.25**	2.28**
B*C	فسفر × بارور۲	2	3.471**	5.760**	18.763**	0.094**	0.980**	0.15**	0.68**
A*B*C	تنش × فسفر ×بارور۲	4	2.731**	2.362**	12.063**	0.029**	0.603**	0.39**	3.38**
Error bc	خطای bc	30	0.069	0.081	0.133	0.005	0.0061	0.011	0.062
C.V (%)	ضریب تغییرات (٪)		11.4	10.3	7.1	9.2	9.2	3.9	4.6

ns ، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد و یک‌درصد

ns, * and ** : Non-Significant , significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۱- ادامه

Table 1- Continued

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares					
			فلاوونوئید ۲۷۰ نانومتر Flavonoids 270 nm	فلاوونوئید ۳۰۰ نانومتر Flavonoids 300 nm	فلاوونوئید ۳۳۰ نانومتر Flavonoids 330 nm	گلوکز Glucose	زایلوز Xlose	مانوز Mannose
Replication (R)	بلوک (R)	2	83.661	3.062	36.867	0.138	0.126	0.107
Water Stress (A)	تنش (A)	2	2522.951**	1390.394**	2386.750**	691.695**	232.782**	311.045**
Error a	خطای a	4	11.982	3.867	3.166	1.005	0.130	0.116
Phosphorus (B)	فسفر شیمیایی (B)	2	19451.667**	8029.94**	11696.35**	92.013**	2.085**	17.315**
Barvar-2 (C)	بارور ۲ (C)	1	636.608**	2417.64**	339.553**	5021.052**	1624.854**	2446.503**
A*B	تنش× فسفر	4	13796.595**	11156.95**	9665.59**	306.644**	126.787**	169.664**
A*C	تنش × بارور۲	2	15814.570**	3204.31**	9108.65**	406.600**	159.472**	173.619**
B*C	فسفر × بارور۲	2	25368.214**	4627.73**	15077.068**	544.890**	277.826**	436.478**
A*B*C	تنش × فسفر ×بارور۲	4	8997.168**	13291.28**	4567.26**	1349.720**	525.787**	768.164**
Error bc	خطای bc	30	32.507	5.271	6.660	1.873	0.119	0.138
C.V(%)	ضریب تغییرات (٪)		4.0	2.4	2.3	1.1	0.4	0.4

ns ، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد و یک‌درصد

ns , * and ** : Non-Significant , significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل بررسی اثر کود زیستی فسفر بارور۲ بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول گلرنگ، تحت شرایط کم‌بود آب

Table 2- Mean comparison of effect of different phosphorus fertilizers on photosynthetic pigment, fv/fm and soluble sugars of safflower under water deficit condition

آبیاری Irrigation	کود زیستی بارور ۲ Barvar-2	کود فسفر Phosphorus	محتوای کلروفیلa Chlorophyll a	محتوای کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoids	نسبت کلروفیلa به b Chlorophyll a/b	آنتوسیانین Anthocyanin
		(Kg ha^{-1})	(mg g FW^{-1})					(µmol/g FW)
بدون قطع آبیاری Without irrigation withholding	عدم تلقیح without inoculation	0	2.04b	2.12b	4.22b	1.11b	0.98a	0.283a
		50	3.02a	3.38a	6.55a	0.70c	0.95a	0.246b
		100	1.55b	1.83b	3.40c	1.87a	0.84a	0.246b
	تلقیح inoculation	0	3.69a	3.28a	7.15a	0.82b	1.10a	0.290b
		50	1.01b	1.41b	2.45c	1.21a	0.71b	0.330a
		100	1.25b	2.02b	3.21b	0.99ab	0.64b	0.270b
تنش در مرحله رویشی Water stress in the vegetative stage	عدم تلقیح without inoculation	0	1.99a	2.80a	4.72a	0.70a	0.70b	0.240c
		50	2.06a	2.98a	5.10a	0.77a	0.68b	0.340a
		100	2.26a	2.12b	4.37a	0.23b	1.02a	0.320b
	تلقیح inoculation	0	3.38a	4.07a	7.63b	0.91b	0.81b	0.290b
		50	1.01b	1.28b	2.20c	1.30a	0.66c	0.310ab
		100	4.04a	4.21a	8.78a	0.21c	0.90a	0.313a
تنش در مرحله زایشی Water stress in the flowering stage	عدم تلقیح without inoculation	0	1.69c	2.36b	4.05c	0.66a	0.77b	0.230c
		50	2.07b	3.08ab	5.16b	0.49b	0.66b	0.240b
		100	3.11a	3.16a	6.28a	0.74a	1.06a	0.260a
	تلقیح inoculation	0	1.45b	1.88c	3.25b	1.94a	0.75a	0.190c
		50	2.80a	3.52b	6.53a	0.279b	0.76a	0.290a
		100	2.97a	4.05a	6.97a	0.274b	0.73a	0.230b

در هر ستون و هر سطح تیمار آبیاری، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج‌درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column and irrigation treatment, followed by similar letter are not significantly different at 5% probability levels,using LSMEANS Test

به‌طوری‌که در آزمایشی تحت رژیم‌های رطوبتی، محتوای کلروفیلb در دو رقم برنج (اوکرا) افزایش‌داشت درصورتی‌که میزان کلروفیلa بدون‌تغییر ماند. اما نسبت کلروفیلa به b در هر دو رقم کاهش معنی‌داری نشان‌داد (Ashraf *et al.*, 1994). هم‌چنین گزارش‌شده که تنش آبی کوتاه‌مدت که باعث پژمردگی معمولی و توقف کامل فتوسنتز خالص در گندم می‌شود و اثری روی کلروفیل برگ نداشته ولی نسبت کلروفیلa به b را افزایش می‌دهد (Ahmdai and Baker, 2000). نتایج این آزمایش مشخص‌کرد که مصرف کود فسفر همرا با کود زیستی بارور۲ تحت‌شرایط تنش رطوبتی در مراحل مختلف رشد گیاه گلرنگ می‌تواند با افزایش نسبت کلروفیلa به b موجب پایداری فتوسنتز در طی دوره تنش گردد.

نتایج آزمایش نشان‌داد در شرایط تنش رویشی، کاربرد ۵۰کیلوگرم کود فسفرتریپل در هکتار در هر دو سطح کود زیستی، بیش‌ترین تأثیر را بر روی مقدار کاروتنوئیدهای محلول برگ داشته‌است. مقایسات میانگین اثرات سه‌گانه نشان‌داد که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار کاروتنوئیدهای محلول برگ در تیمار تنش در مرحله زایشی و بدون‌استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (بارور۲)، به‌ترتیب از کاربرد ۱۰۰ و ۵۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار با ۰/۷۴ و ۰/۴۹میلی‌گرم در گرم وزن تَر برگ مشاهده‌شد.

جدول ۲- ادامه

Table 2- Continued

آبیاری Irrigation	کود زیستی بارور ۲ Barvar-2	کود فسفر Phosphorus	فلاوونوئید ۲۷۰ Flavonoids 270 nm	فلاوونوئید ۳۰۰ Flavonoids 300 nm	فلاوونوئید ۳۳۰ Flavonoids 330 nm	fv/fm	گلوکز Glucose	زایلوز Xlose	مانوز Mannose
		($kg\ ha^{-1}$)	(Abs/mg F.W.)				(µg/g F.W.)		
بدون قطع آبیاری Without irrigation withholding	عدم تلقیح without inoculation	0	130.47c	91.60c	94.23c	0.42b	103.84b	62.07b	72.93b
		50	196.30b	141.02b	154.72b	0.61a	119.63a	69.63a	79.80a
		100	227.80a	168.60a	185.53a	0.64a	101.84c	61.80b	74.06b
	تلقیح inoculation	0	112.62b	83.55c	89.43b	0.52b	114.99b	68.13c	82.75c
		50	128.66a	93.22a	100.52a	0.60a	127.46a	75.73b	88.89b
		100	115.22ab	86.22b	89.85b	0.52b	134.41a	79.86a	99.38a
تنش در مرحله رویشی Water stress in the vegetative stage	عدم تلقیح without inoculation	0	138.42b	99.22c	106.01b	0.59a	95.40c	56.34c	67.07c
		50	167.58a	113.52a	127.07a	0.62a	118.14b	69.68b	83.43b
		100	160.11c	110.78b	122.15c	0.53b	123.44a	73.59a	88.61a
	تلقیح inoculation	0	217.91a	156.95a	168.39a	0.54a	173.68a	105.08a	124.09a
		50	131.64b	98.56b	105.91b	0.46b	131.76b	74.00b	85.97b
		100	114.06c	89.28b	73.50c	0.41b	120.54c	72.50c	85.85b
تنش در مرحله زایشی Water stress in the flowering stage	عدم تلقیح without inoculation	0	123.47b	89.35b	92.27b	0.44c	106.01c	65.57b	77.69b
		50	216.77a	161.02a	174.66a	0.55a	108.78b	70.01a	83.57a
		100	96.28c	70.19c	75.05c	0.51b	116.41a	61.72c	73.02c
	تلقیح inoculation	0	267.38a	190.69a	204.23a	0.38c	111.82c	67.01c	79.63c
		50	78.16b	61.56b	74.86b	0.64a	130.73a	68.71b	81.75b
		100	69.63c	89.53c	57.70c	0.55b	121.67b	78.13a	93.03a

در هر ستون و هر سطح تیمار آبیاری، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج‌درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column and irrigation treatment, followed by similar letter are not significantly different at 5% probability levels,using LSMEANS Test

ولی مصرف کود فسفرتریپل در تیمار کاربرد کود زیستی فسفاته، موجب کاهش میزان کاروتنوئیدهای محلول برگ شد به‌طوری‌که با افزایش مصرف کود شیمیایی فسفر از میزان کاروتنوئیدهای محلول برگ به‌شدت کاسته‌شد. بنابراین استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (بارور۲)، به‌تنهایی و بدون‌استفاده از کودهای شیمیایی فسفره توانست میزان کاروتنوئیدهای محلول برگ را تحت‌شرایط تنش کم‌بود آب در مرحله زایشی افزایش دهد. بدین‌ترتیب بر اساس این نتایج می‌توان بیان‌نمود که استفاده از کود زیستی فسفر بارور۲ در شرایط کم‌بود آب در مرحله زایشی می‌تواند در کاهش مصرف کودهای شیمیایی نیز تأثیرگذار باشد. از بررسی نتایج این آزمایش می‌توان نتیجه‌گرفت که استفاده از کود زیستی تحت شرایط تنش خشکی، در مرحله زایشی گلرنگ می‌تواند با افزایش غلظت رنگدانه‌هایی نظیر کاروتنوئیدهای محلول سبب کاهش خسارت اکسیداتیو شود.

نتایج این تحقیق نشان‌داد که کاربرد کود زیستی فسفاته بارور۲، تحت‌شرایط تنش در مرحله زایشی، تأثیر مثبتی بر روی میزان آنتوسیانین با مصرف توأم کود شیمیایی (به‌مقدار ۵۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار) داشت و کم‌ترین مقدار میزان آنتوسیانین در اثر عدم‌مصرف کود فسفر مشاهده‌شد، اما در اثر عدم به‌کارگیری کود زیستی فسفاته بارور ۲، تحت شرایط تنش زایشی، بیش‌ترین مقدار این صفت از به‌کارگیری ۱۰۰کیلوگرم فسفر در هکتار مشاهده‌شد، بنابراین تحت‌شرایط کم‌آبی به‌خصوص در مرحله زایشی، کاربرد کود زیستی فسفاته بارور۲ به‌همراه حداقل مصرف کود فسفر موجب افزایش میزان آنتوسیانین شده‌است. تمامی تیمارهای کودی فسفر در سطح کود زیستی فسفاته بارور۲، موجب افزایش میزان آنتوسیانین در شرایط تنش رویشی در مقایسه با شاهد (عدم‌مصرف کود فسفر) شدند. در سطح عدم به‌کارگیری کود زیستی فسفاته بارور۲، نیز بیش‌ترین مقدار آنتوسیانین با ۰/۳۴میکرومول در گرم وزن تَر برگ از تیمار مصرف ۵۰کیلوگرم فسفر در هکتار به‌دست آمد و کم‌ترین مقدار هم با ۰/۲۴میکرومول درگرم وزن تَر برگ از تیمار عدم به‌کارگیری کود فسفر بود (جدول ۲). هم‌چنین گزارش‌شده که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری محتوای آنتوسیانین‌ها را در برگ‌های گیاهچه‌های لوبیا

چشم‌بلبلی افزایش داده‌است (Balakumar *et al.,* 1993). آنتوسیانین‌ها پتانسیل از بین‌بردن انواع اکسیژن‌فعال را دارند (Pietrini *et al.,* 2002). به‌نظر می‌رسد که کاربرد کود زیستی به‌همراه کود شیمیایی فسفر توانسته با افزایش غلظت آنتوسیانین، سطح تحمل گیاه به خشکی را افزایش داده‌باشد.

بررسی نتایج مقایسات میانگین اثرات متقابل سه‌گانه نشان‌داد، در هنگام اعمال تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی گلرنگ، کاربرد کود شیمیایی فسفره (به‌مقدار ۵۰کیلوگرم در هکتار) در تیمار عدم به‌کارگیری کود زیستی، در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف کود فسفر) تأثیر مثبت بر روی مقادیر رنگدانه‌های فلاونوئیدهای اندازه‌گیری‌شده در سه طول‌موج (۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰نانومتر) داشت، اما فلاونوئیدهای اندازه‌گیری‌شده در سه طول‌موج (۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰نانومتر)، در اثر به‌کارگیری کود زیستی، بدون‌مصرف کود شیمیایی فسفر افزایش معنی‌داری داشت و با افزایش کود شیمیایی فسفر از میزان آن‌ها به‌طور چشم‌گیری کاسته‌شد (جدول ۲). بدین‌ترتیب می‌توان بیان‌نمود که استفاده از کود زیستی، به‌تنهایی تحت‌شرایط تنش در مراحل رشد رویشی و زایشی گلرنگ، می‌تواند سبب افزایش فلاونوئیدها گردد.

مشاهده‌شده که مقادیر فلاونوئیدها در نخودفرنگی (*Pissum sativum*) در شرایط تنش شوری افزایش شدید ۴۵درصدی داشته است (Nogueés *et al.,* 1998). هم‌چنین گزارش شده‌است که فلاونوئیدها به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدانت در پاک‌سازی انواع اکسیژن‌فعال عمل می‌کنند (Rice-Evans *et al.,* 2006). در این تحقیق افزایش این رنگدانه‌ها در اثر تلقیح کود زیستی و کود سوپرفسفات‌تریپل در شرایط تنش می‌تواند نقش مهمی در کاهش خسارت تنش اکسیداتیو داشته‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان‌داد در شرایط تنش در مرحله رویشی، بیش‌ترین مقدار حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستمII در زمان تنش خشکی، در تیمار بدون‌تلقیح با کود زیستی مربوط به‌مصرف ۵۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار می‌باشد و با افزایش فسفر مصرفی میزان حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستمII، کاهش یافت. در تیمار تلقیح‌شده با کود زیستی بیش‌ترین مقدار عملکرد کوآنتومی فتوسیستمII در زمان تنش خشکی مربوط به‌عدم به‌کارگیری کود فسفره بود. بنابراین کاربرد کود زیستی به‌تنهایی مقادیر حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستمII، در زمان تنش خشکی را افزایش‌داد. اما مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه نشان‌داد که در هر دو سطح کود زیستی، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستمII در زمان اعمال تنش خشکی در مرحله زایشی، از تیمارهای ۵۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار و عدم‌مصرف کود شیمیایی فسفر به‌دست آمد (جدول ۲).گزارش‌شده که کاهش نسبت fv/fm (عملکرد فلورسانس : نسبت فلورسانس متغییر به فلورسانس حداکثر) در طول خشکی در تمام گونه‌ها به‌عنوان یک تنظیم فیزیولوژیکی انتقال الکترون توسط فرآیندهای ساطع‌کننده انرژی، گیرنده فتوسیستمII می تواند اتفاق افتد (Nogues and Baker, 2000). سوء عمل فتوسیستمII که باعث کاهش کارایی انتقال الکترون برای واکنش فتوسنتزی می شود می‌تواند نتیجه آن، تجمع مقدار زیاد انواع اکسیژن‌فعال باشد و از آنجایی‌که که کلروپلاست‌ها یکی از اصلی‌ترین مکان‌های تولیدکننده انواع اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی است (Garnczarska *et al.,* 2004)، لذا تجمع رادیکال‌های آزاد موجب کاهش بیش از حد مراکز واکنش در فتوسیستمII و محدودکردن فتوسنتز در گیاهان تحت تنش خشکی می‌گردد (Demmig-Adams and Adams, 1992). از این‌رو به‌نظر می‌رسد کاربرد کود زیستی فسفر بارور۲ و کود فسفر در شرایط تنش خشکی موجب بهبود عملکرد کوانتومی فتوسیستمII در گلرنگ شده‌باشد.

نتایج این آزمایش نشان‌داد که روند تغییرات قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) در سطح تنش زایشی در سطوح کود زیستی مشابه‌بود. به‌نحوی‌که کاربرد کود زیستی به‌همراه ۵۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار بیش‌ترین تأثیر را در افزایش قندهای محلول در شرایط تنش زایشی داشت. به‌طوری‌که مقادیر قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) نسبت به شاهد به‌ترتیب در حدود ۱۶/۹، ۱۶/۶ و ۱۶/۸درصد افزایش داشت. اما بالاترین مقادیر قندهای محلول در این شرایط در تیمار عدم‌تلقیح کود زیستی مربوط به‌مصرف ۱۰۰کیلوگرم کود فسفر در هکتار بود. نتایج نشان‌داد در هنگام اعمال تنش در مرحله رویشی، بالاترین مقادیر قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) در تیمار تلقیح‌شده با کود زیستی بدون‌استفاده از کود شیمیایی فسفر بود. بنابراین تلقیح کود زیستی تحت چنین‌شرایطی بدون‌مصرف کود فسفر موجب افزایش قندهای محلول شد. درحالی‌که در تیمار بدون‌تلقیح کود زیستی، بالاترین سطح کودهای شیمیایی فسفره اثر معنی‌داری بر میزان قندهای محلول داشت. تجمع قندها در پاسخ به تنش خشکی توسط سایر محققین نیز گزارش شده‌است (De Carvalho, 2005). هم‌چنین بیان‌شده که در شرایط خشکی، محتوای قندهای محلول کل در گیاهچه‌های ذرت که با باکتری‌های حل‌کننده فسفات تلقیح شده‌بودند، نسبت به گیاهچه‌های تلقیح‌نشده با باکتری افزایش داشت (Sandhya *et al.,* 2010). این‌امر نشان می‌دهد که سودوموناس در بیوسنتز آن‌ها به‌وسیله تخریب محتوای نشاسته بیش‌تر برای تنظیم اسمزی به‌منظور کاهش اثر تنش کمک می‌کند.

نتیجه‌گیری

بنابراین باتوجه به‌نتایج این آزمایش به‌نظر می‌رسد که مصرف کودهای شیمیایی فسفره و هم‌چنین استفاده از کودهای زیستی

تحت‌شرایط تنش به‌ویژه در مرحله زایشی گلرنگ از طریق تجمع قندهای محلول، موجب کاهش خسارت ناشی از تنش شده‌باشد. در این آزمایش مشخص‌گردید که کاربرد کود زیستی فسفر بارور۲ و کود شیمیایی سوپرفسفات‌تریپل در شرایط تنش خشکی در مراحل مختلف رشد گلرنگ توانست بر میزان کلروفیلa، b، کلروفیل کل، نسبت کلروفیلa به b، کاروتنوئیدها، fv/fm، آنتوسیانین، فلاونوئیدها، قندهای محلول برگ تأثیر معنی‌داری داشته باشد. حفظ رنگیزه‌هایی مانند کلروفیل‌های a و b می‌تواند سبب ثبات فتوسنتز در گیاه تحت شرایط کم‌آبی گردد، هم‌چنین افزایش رنگدانه‌هایی از قبیل آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدهای محلول در برگ و قندهای محلول نیز می‌تواند مقاومت گیاه را به خشکی افزایش دهند. از این رو به‌نظر می‌رسد که کاربرد کود زیستی به‌تنهایی و همراه با کود شیمیایی فسفر نقش مؤثری در افزایش مقاومت گلرنگ در شرایط تنش خشکی دارد.

References

1- Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Lakshmanan, G. M., Gomathinayagam, M., and Panneerselvam, R. 2007. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 61(2): 298-303.

2- Ahmadi, M. R. and Omidi, A. H. 1996. Evaluation of seed yield and effect of harvesting time on oil content of spring and winter safflower. Iranian Journal of Agriculture Science 27(4): 29-36. (In Persian with English Abstract)

3- Ahmdai, A., and Baker, D. A. 2000. Stomata and nonstomatal of photosynthesis under water stress condition in wheat plant. Iranian Journal of Agriculture Science 31(4): 813-825. (In Persian with English Abstract)

4- Alizadeh, A. 2011. Soil, Water and Plant Relationship. Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

5- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., and Smith, M.1998. Crop Evapotranspiration (Guidelines for Computing Crop Water Requirements). Irrigation and Drainage Paper 56. FAO, United Nations, Rome.Italy.

6- Ashraf, M. Y., Azmi, A. R., Khan, A., H., and Ala, S. A.1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under soil water deficits. Acta Physiologiae Plantarum 16: 185-191.

7- Balakumar, T., Vincent, V. H. B. and Paliwal, K. 1993. On the interaction of UV-B radiation (280-3 15 nm) with water stress in crop plants. Physiologia Plantarum 87: 217-222.

8- Basu, S., Roychoudhury, A., Saha, P. P., and Sengupta, D. N. 2010. Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. Plant Growth Regulation 60:51-59.

9- Behra, R. K., Mishra, P. C., and Choudhury, N. K. 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. Journal of Plant Physiology 159: 967-973.

10- Bishop, D. L., and Bughee, B. G.1998. Photosynthetic capacity and dry mass partitioning in dwarf and semi – dwarf wheats. Journal of Plant Physiology 153: 558-565.

11- Candan, N., and Tarhan, L. 2003. Change in chlorophyll–carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn–stressed *Mentha pulegium*. Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.

12- Castrillo, M., and Turujillo, I. 1994. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. Photosynthetica 30: 175-181.

13- Chaves, M. M., Maroco, J. P., and Pereira, J. S. 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. Functional Plant Biology 30: 239-264.

14- Darzi, M. 2007. Evaluation the effects of bio-fertilizers on quantitative and qualitative performance of Fennel for receiving to sustainable agriculture system. Ph.D. thesis. University of Tarbiat Modares. 115 pp. (In Persian)

15- De Carvalho, I. M. M. S. 2005. Effects of water stress on the proximate composition and mineral contents of seeds of two Lupins (*Lupinus Albus* et *Lupinus Mutabilis*). Journal of Food Quality 28(4):325-332.

16- Demmig-Adams, B., and Adams, W. W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 43:599-626.

17- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F.1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-356.

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

19- Garnczarska, M., Bednarski, W., and Morkunas, I. 2004. Re-aeration-induced oxidative stress and antioxidative defenses in hypoxically pretreated lupine roots. Journal of Plant Physiology 161: 415- 422.

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

21- Jaleel, C. A., Gopi, R., and Panneerselvam, R. 2008. Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. Comptes rendus Biologies 331: 272–277.

22- Jiang, Y., and Huang, B. 2001. Drought and heat injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science 41: 436-442.
23- Kokalis-Buerelle, N., Kloepper, J. W., and Reddy, M. S. 2006. Plant growth- promoting rhizobacteria as transplant amendments and their affects on indigenous rhizosphere microorganisms. Applied Soil Ecology 31: 91-100.
24- Krizek, D. T., Kramer, G. F., Upadhyaya, A., and Mirecki, R. M. 1993. UV-B Response of cucumber seedling grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. Plant Physiology 88: 350-358.
25- Kulshreshtha, S., Mishra, D. P., and Gupta, R. K. 1987. Changes in contents of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast and chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotype of wheat. Photosynthetica 21: 65-70.
26- Leng, P., Itamura, H., Yamamura, H., and Deng, X. M. 2000. Anthocyanin accumulation in apple and peach shoots during cold acclimation. Scientia Horticulturae 83: 43-50.
27- Lichtenthaler, H. K.1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.
28- Malbubi, A. 2007. Characteristic of Barvar-2 phosphorus biofertilizer.Technical publication.Zist Fannavar Sabz Publications. Tehran, Iran.p.104.
29- Manirannan, P., Abdul Jaleel, C., Sankar, B., Kishore kumar, A., Soma sundaram, R., Lakshmanan, G. M., and Panneerselvam, R. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus L*. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59(2): 141-149.
30- Marius, S., Octavita, A., Eugen, U., and Vlad, A. 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Pakistanian Journal of Biological Science 6(6): 539-543.
31- Marulanda, A., Porcel, R., Barea, J. M., and Azcón, R. 2007. Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive *Glomus* species. Microbial Ecology 54:543-552.
32- Mehrvarz, S., and Chaichi, M. R. 2008. Effect of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on forage and grain quality of barely (*Hordeum vulgare* L.). American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 3(6): 855-860.
33- Miladi Lari, A., and Ehsanzadeh, P. 2010. The negative effect of drought on safflower grain yield through impact on photosynthetic surfaces and on efficiency. Iranian Journal of Field Crop Science 41 (2): 375-384. (in Persian with English abstract)
34- Mohsenzadeh, S., Malboobi, M. A., Razavi, K., and Farrahi-Aschtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. Environmental and Experimental Botany 56:314-322.
35- Nasibi, F., and M-Kalantari, K. H. 2005. The effects of UV-a, UV-b and UV-c on protein and ascorbate content, lipid peroxidation and biosynthesis of screening compounds in *Brassica Napus*. Iranian Journal of Science and Technology 29 (1):39-48.
36- Navari-Izoo, F., Quartacci, M. F., and Izzo, R. 1990. Water-stress induced changed changes in protein and free amino acids in field grown maize and sun flower. Plant Physiology and Biochemistry 28: 531-537.
37- Nogueés, S., Allen, D. J., Morison, J. I. L., and Baker, N. R.1998. Ultraviolet-B radiation effects on water relations, leaf development, and photosynthesis in droughted pea plants. Plant Physiology 117:173-181.
38- Nogues, S., and Baker, N. R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany 348: 1309-1317.
39- Paine, T. D., Hanlon, C. C., Pittenger, D. R., Ferrin, D. M., and Malinoski, M. K. 1992. Consequences of water and nitrogen management on growth and aesthetic quality of drought-tolerant woody landscape plants. Journal of Environmental Horticulture 10:94-99.
40- Papageorgiou, G. C., and Govindjee (Eds.). 2004. Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration.19. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
41- Parvanova, D., Ivanov, S., Konstantinova, T., Karanov, E., Atanassov, A., Tsvetkov, T., Alexieva, V., and Djilianov, D. 2004. Transgenic tobacco plants accumulating osmolytes show reduced oxidative damage under freezing stress. Plant Physiology and Biochemistry 42: 57-63.
42- Pessarkli, M. 1999. Hand book of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc. 697 pages.
43- Pietrini, F., Iannelli, M. A., and Massacci, A. 2002. Anthocyanin accumulation in the illuminated surface of maize leaves enhances protection from photo-inhibitory risks at low temperature, without further limitation to photosynthesis. Plant, Cell & Environment 25:1251-1259.
44- Rice-Evans, C. 2001. Flavonoid antioxidants. Current Medicinal Chemistry 8:797-807.
45- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G. 2006. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine 335: 166-180.
46- Sandhya, V., Ali, Sk Z., Grover, M., Reddy, G., and Venkateswarlu, B. 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress.

Plant Growth Regulation 62:21-30.

47- Schutz, M., and Fangmeir, E. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution 114: 187-194.

48- Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., and Ebrahimzadeh, H. 2003. Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. Iranian Journal of Agriculture Science 35(1): 93-106. (in Persian with English abstract)

49- Voleti, S. R., Singh, V. P., and Uprety, P. C. 1998. Chlorophyll and proline as affected by moisture stress in young and mature leaf tissues of *Brassica carinata* hybrids and their plants. Journal of Agronomy and Crop Science 180(2): 123-126.

50- Wise, R. R., and Naylor, A. W. 1989. Chilling enhanced photo-oxidation, the peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultra structure. Plant Physiology 83: 278-282.

51- Zarghami, R., Zahravi, M., Aslanzadeh, A. and Abbasali, M. 2011. Evaluation of autumn sown genotypes of safflower (*Carthamus tinctorius*) for tolerance to drought stress. Seed and Plant Improvement Journal 27(3): 339-355.(In Persian with English Abstract)

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 14, No. 2, Summer. 2016, p. 304-317

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۴، شماره ۲ ، تابستان ۱۳۹۵، ص. ۳۱۷-۳۰۴

Study the Effect of Different Phosphorus Fertilizers on Physiological Characteristic of Photosynthetic Pigments and Soluble Sugars of Safflower under Water Deficit Condition

S. Heshmati[1]- M. Amini Dehaghi[2*]- A. Rezazadeh[3] – K. Fathi Amirkhiz[1]

Received: 15-09-2014
Accepted: 09-08-2015

Introduction

Drought stress is one of the most important and effective factors in agricultural practices in arid and semi-arid regions of the world. The arid and semi-arid regions comprise more than 70% of the total area of Iran. Reduction in chlorophyll concentrations has been attributed to the increase in chlorophyll degradation in water deficit conditions and impairment in the enzymes activity responsible for the synthesis of photosynthetic pigments. Under drought stress, maintenance of photosynthetic capacities and leaf chlorophyll are physiological parameters which influence drought stress tolerant of crop. Phosphorus is one the most essential elements for plant growth after nitrogen. However, the availability of this nutrient for plants is limited by different chemical reactions especially in arid and semi-arid soils. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) are soil and rhizosphere bacteria that can benefit plant growth by different mechanisms. Given the negative environmental impact of chemical fertilizers and their increasing costs, the use of PGPB as natural fertilizers is advantageous for the development of sustainable agriculture. Inoculation of plants with native beneficial microorganisms may increase drought tolerance of plants growing in arid or semi-arid areas.

Materials and Methods

In order to study the effect of biologic and chemical phosphorous fertilizer on photosynthetic pigments of safflower cultivar (IL111), under water deficit condition, an experiment was conducted in 2012 at the Research Field of the Faculty of Agriculture, Shahed University. The experimental design was split-factorial arrangement in randomized complete block design with three replicates. The main factors were the three levels of irrigation treatment: full irrigation (irrigation up to 50% soil moisture depletion relative to field capacity), water stress in the vegetative and flowering stages (irrigation up to 75% soil moisture depletion relative to field capacity). The sub-factors were the six treatments resulting from three levels of phosphate chemical fertilizer (0, 50, and 100 kg ha^{-1} Triple Super Phosphate), each at two levels of Barvar-2 bio-fertilizer (with and without inoculation with Barvar-2). The applied biological fertilizer was in the type of the bacteria which release the phosphorus from soil components and neutralize the soil pH. The commercial name of the biologic fertilizer is Barvar-2. The effective gradients of the biological phosphorus fertilizer is comprised of two bacteria strains of p5 *(Bacillus lentus)* and p13 (*Pseudomonas potida*) with 108 cfu (colony forming units) which have been screened from soil bacteria populations. The bacteria strain p5 (*Bacillus lentus*) dissolves P from soil mineral compounds while p13 (*Pseudomonas potida*) separates P from soil organic compounds by exerting a variety of phosphatase enzymes.

Results and Discussion

The results showed that the highest amount of chlorophyll a, b and total chlorophyll obtained with application of chemical phosphorus by 100 kg ha^{-1} Triple Super Phosphate followed by inoculation with Barvar-2 under water deficit condition at vegetation and flowering stages. At drought stress in flowering stage, use of high level of phosphorus without inoculation with Barvar-2, had highest effect in terms of increasing amount of chlorophyll a/b ratio, but at treatment of inoculation with Barvar-2, the highest amount of chlorophyll a/ b ratio obtained with low level of chemical phosphorus by 50 kg ha^{-1} Triple Super Phosphate. The means comparison showed that highest amount of carotenoids, fv/fm, anthocyanin, flavonoids and soluble sugars obtained with application of chemical phosphorus by 50 kg ha^{-1} Triple Super Phosphate without Barvar-2 under water stress condition at vegetation and flowering stages. The inoculation with Barvar-2 followed by chemical phosphorus by 50 kg ha^{-1} Triple Super Phosphate significantly increased the amount of anthocyanin and soluble sugars of leaf

1- Former MSc Student, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
3- Assitant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: amini@shahed.ac.ir)

under drought stress at flowering stage, while the amount of carotenoids and flavonoids, increased with Barvar-2 without using of chemical phosphorus.

Conclusions

Our experiment showed that application of chemical phosphorus fertilizer followed by inoculation with Barvar-2 had huge effect on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, chlorophyll a/ b, carotenoids, fv/fm, anthocyanin, flavonoids and soluble sugars under water stress condition at vegetation and flowering stages. The highest amount of photosynthetic pigment such as anthocyanin, flavonoids, carotenoids and soluble sugars could increases stress tolerance of safflower under water deficit condition. In general, the results of this experiment showed that application of Barvar-2 followed by chemical phosphorus had effective role in improve of qualitative traits of safflower under drought stress condition.

Keywords: Anthocyanin, Barvar-2, Chlorophyll, Drought stress, fv/fm