تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد پنجم، شماره سوم، زمستان ۱۴۰۲، ص ۶۷۰-۶۵۵

مقاله پژوهشی

تأثیر محلول‌پاشی آسکوربیک اسید و کلسیم بر خصوصیات مورفو-فیزیولوژیکی گوار (*Cyamopsis tetragonoloba*) در شرایط تنش خشکی

نظام الدین حسینی نژاد[۱]، سید مسعود ضیایی[۲]، علیرضا عینعلی[۱*]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

۲- گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران

* مسئول مکاتبه: aeinali@science.usb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱ /۱۱/۱۳ **DOI: 10.22034/CSRAR.2023.368010.1286**

چکیده

به منظور بررسی پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه گوار به محلول‌پاشی آسکوربیک اسید و کلسیم تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی بصورت فاکتوریل با دو فاکتور در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی مجتمع آموزش عالی سراوان در سال ۱۳۹۹-۱۴۰۰ انجام گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش خشکی (۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و سه سطح محلول‌پاشی (عدم محلول‌پاشی، محلول‌پاشی با کربنات کلسیم و آسکوربیک اسید با غلظت سه در هزار) بودند. نتایج نشان داد که با اعمال سطوح تنش خشکیِ ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، نسبت به تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی، صفات ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، طول غلاف، وزن خشک برگ و پروتئین کل روندی کاهشی و صفات قند احیایی، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و طول ریشه روندی افزایشی نشان دادند. محلول‌پاشی کلسیم، نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک، صفات ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته و وزن خشک برگ را بطور معنی‌داری افزایش داد. هم‌چنین محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کلسیم، نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی، میزان پروتئین کل، قند احیایی و طول و وزن خشک ریشه را بطور معنی‌داری افزایش و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را بطور معنی‌داری کاهش داد. در مجموع به نظر می‌رسد که فراهمی رطوبت در حد مقادیر ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، باعث شکل‌گیری مکانیسم‌های مقابله با تنش خشکی در گیاه گوار شده، اما محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کلسیم، می‌تواند تا حدی در تعدیل اثرات تنش خشکی بر روی این گیاه مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: پلی فنل اکسیداز، پروتئین کل، ظرفیت زراعی، قند احیایی، وزن خشک ریشه

مقدمه

گوار (*Cyamopsis tetragonoloba*) گیاهی است یکساله از خانواده بقولات و متحمل به شوری و خشکی که می‌توان از آن به عنوان یک محصول جایگزین در دشت‌های کم آب بجای گیاهان زراعی حساس به شرایط کم آبی استفاده نمود (Grover *et al.*, 2016). محیط ایده‌آل برای جوانه‌زنی مطلوب گوار، شرایطی است که دمای خاک بیش از ۲۵ درجه سانتی‌گراد باشد (Gul *et al.*, 2019). گوار در اراضی دارای بافت سبک، خاک‌های شنی- شنی لومی و هم‌چنین در مناطقی که دارای بارندگی سالیانه ۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌متر هستند، به خوبی رشد می‌کند. ریشه‌های آن قابلیت همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن را داشته و می‌تولند نیتروژن آزاد جو را به شکل قابل جذب برای خود در آورد. ۸۰ درصد سطح زیر کشت گوار در دنیا به هندوستان اختصاص داشته و بعد از آن، پاکستان در رده دوم تولید این گیاه قرار دارد (Hema and Shalendra, 2014). گوار منبع مهمی از صمغ گالاکتوملنان می‌باشد که از آندوسپرم گیاه استخراج شده و با حل شدن در آب به حالت ژله‌ایی در می‌آید. این ویژگی باعث شده است که گوار در صنایع مختلف استفاده‌های متنوعی داشته باشد (Pathak and roy, 2015). علاوه بر این، ترکیب جنین و پوسته بذر گوار، کنجاله این محصول را تشکیل می‌دهند که غنی از پروتئین می‌باشد. هم‌چنین فرآورده‌هایی از صمغ گوار در کاهش وزن، کاهش قند خون، برطرف کردن چاقی وکم اشتهایی بدست می‌آید که کاربردهای دارویی این گیاه ارزشمند را نشان می‌دهند (Hossieni Nezhad, 2021; Singh, 2014).

خشکی یکی از مهمترین محدودیت‌های تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد (Ezati *et al.*, 2019). بطور کلی از دیدگاه کشاورزی، خشکی به شرایطی

اطلاق می‌شـــود که در نتیجه آن، کاهش عملکرد گیاه در حد پایین‌تر از شـــرایط مناســـب فراهمی آب رخ می‌دهد. تداوم این وضـــعیت می‌تواند منجر به کاهش بیوماس گیاهی گردد (Kafi *et al.*, 2018). عموماً در اثر تنش خشکی، روزنه‌ها بسته‌تر شده و هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد. این امر ســـبب تخلیه دی اکســـید کربن در فضـــاهای بین ســـلولی شـــده و میزان تبادلات گازی، خصـوصاً سـرعت تبادل کربن (CER[1]) در برگ‌ها کاهش می‌یابد (Fathi *et al.*, 2022; Halit *et al.*, 2006). بدین ترتیب فعالیت اکسـیژنازی آنزیم روبیسـکو و فرایند تنفس نوری افزایش پیدا می‌کند (Abogadallah, 2010). در این شـــرایط اگر شـدت نور در محیط به اندازه کافی بالا باشـد، همه تولیدات حاوی انرژی سیستم انتقال الکترون را مصرف می‌کند که پیامد آن، وقوع بازدارندگی نوری و تولید گونه‌های فعال اکســـیژن (ROS[2]) خواهد بود. افزایش ناگهانی ROSها در ســـلول ســـبب بروز تنش اکســـیداتیو می‌گردد (Gill and Tuteja, 2010). عموماً در این شرایط، توازن جذب عناصر غذایی توسط گیاه بهم خورده و عناصـر ضـروری و مورد نیاز، کمتر در اختیار گیاه قرار می‌گیرند. در همین راستا در شرایط کمبود رطوبت، جذب فسفر نیز کاهش می‌یابد (Fanaei *et al.*, 2009). از طرف دیگر در شـــرایط تنش خشـــکی، گیاه از طریق تجمع متابولیت‌ها در سلول‌های در حال رشد و نقاط مریستمی، پتانسیل اسمزی را در این سـلول‌ها منفی‌تر کرده و بدین ترتیب، جذب آب و آماس سـلولی را برای این سـلول‌ها حفظ می‌کند (Chimenti *et al.*, 2006). لذا انجام اقداماتی هم‌چون اعمال کودهای تقویتی برای گیاه، که بتوانند در تعدیل اثرات تنش خشـــکی مؤثر باشـــند، می‌تولند امر مهمی در ممانعت از کاهش عملکرد گیاهان زراعی باشد.

یکی از متابولیت‌هایی که در زمان بروز تنش‌های مختلف محیطی از جمله خشـکی، توان گیاه را در مقابله با تنش افزایش می‌دهد، اسـید آسـکوربیک (AsA[3]) اسـت (Akram *et al.*, 2017). اسید آسکوربیک در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن نقش داشـــته و با حذف ROSها، از اکســـید شـــدن و تخریب پروتئین‌ها ممانعت می‌کند. چرا که آســـکوربیک اســـید، ســـبب افزایش محتوی پروتئین‌های حفاظت کننده در ریشه و اندام‌های هوایی شـده و این پروتئین‌ها در پاکسـازی ROSها ایفای نقش می‌کنند (Akram *et al.*, 2017; Kafi *et al.*, 2018). در واقع AsA یک کمپلکس غیرآنزیمی است که گیاهان را قادر می‌سازد تا با کاهش ROSها در برابر تنش‌های مختلف از خود دفاع کننـد (Shafiq *et al.*, 2014). در زمـان بروز تنش، AsA در سـیتوزول گیاه انتشـار یافته و به عنوان یک آنتی‌اکسـیدان عمل می‌کند. تحقیقات نشـــان داده‌اند که کاربرد خارجی AsA در بهبود رشـد و نمو گیاه با ارتقای سـیسـتم دفاعی اکسـیداتیو، ســـیگنال رســـانی هورمونی در گیاه، انتقال یون‌ها و ســـایر فرآیندهای مرتبط تحت شـرایط تنش و حتی بدون تنش بسـیار مؤثر بوده است (Darvishan *et al.*, 2013).

یکی دیگر از عناصـر حائز اهمیت برای رشـد گیاه، عنصـر کلســـیم اســـت که علی‌رغم غیرمتحرک بودن، دارای نقش‌های متعددی در گیاه می‌باشـــد. تنظیم نفوذپذیری ســـلول و ایفای نقش به عنوان پیام‌رسـان در بافت‌های گیاهی، تأثیر در تشـکیل دیواره‌های پکتوسـلولوزی و فعال کردن برخی آنزیم‌ها و واکنش آن‌هـا بـا هورمون‌هـای گیـاهی، بـه ترتیـب از نقش‌هـای الکتروشـیمیایی، سـاختمانی و کاتالیکی کلسـیم هسـتند (Taiz and Zeiger, 2006; Grenzi *et al.*, 2021). گزارش شـــده اسـت که یون‌های کلسـیم می‌توانند بواسـطهٔ شـرکت در فرایند انتقال سـیگنال خشـکسـالی و تحریک سـنتز اسـید آبسـزیک (ABA[4])، تحمل به خشـــکی را در گیاهان افزایش دهند (Ali *et al.*, 2020). از این رو، این پژوهش بـا هـدف بررســـی اثر محلول‌پاشی آسکوربیک اسید و کلسیم بر برخی صفات مورفو-فیزیولوژیک گوار تحت شرایط تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش، در گلخـانـه تحقیقـاتی مجتمع آموزش عـالی سراوان در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹، بصورت فاکتوریل با دو فاکتور در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشـی شـامل سـه سـطح تنش خشـکی (۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصـد ظرفیت زراعی (Vaziri *et al.*, 2017) و سه سطح محلول‌پاشی (عدم محلول‌پاشی، محلول‌پاشی با کربنات کلسیم و آسکوربیک اســـید با غلظت ســـه در هزار) بودند. بذرهای گیاه گوار ابتدا در

[1]- Carbon Exchange Rate
[2]- Reactive Oxygen Species
[3]- Ascorbic Acid
[4]- Abscisic Acid

تاریخ پنجم اسفند ماه سال ۱۳۹۹ در سینی‌های نشاء کاشته شده و پس از جوانه‌زنی و سبز کردن، در تاریخ ۲۰ اسفند ماه همان سال، به گلدان‌های اصلی منتقل شدند و سطوح تیمار تنش خشکی نیز از همان زمان اعمال گردید. بافت خاک محل آزمایش از نوع سیلت لومی بود (جدول ۱). گلدان‌ها تا رسیدن به مرحله گل‌دهی با آب شهری آبیاری شدند. ظرفیت زراعی در این آزمایش به روش وزنی محاسبه شد. بدین صورت که جهت تعیین درصد رطوبت در وضعیت ظرفیت زراعی خاک (FC)، سه گلدان از خاک مورد آزمایش تهیه و برای تعیین وزن خشک خاک، خاک آن‌ها به مدت ۷۲ ساعت داخل آون در دمای ۹۰ درجه قرار گرفت و وزن خاک خشک تعیین شد. سپس خاک خشک شده در گلدان‌ها ریخته و از آب اشباع شدند. در ادامه به منظور جلوگیری از تبخیر سطحی، سطح گلدان‌ها پوشیده و پس از خارج شدن کامل آب ثقلی، گلدان‌ها توزین شده و وزن آن‌ها بصورت روزانه اندازه‌گیری گردید. پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک، مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند. طبق محاسبات انجام شده، رطوبت ۲۱ درصد در نقطه ظرفیت زراعی تعیین شد. معیار آبیاری در گلدان‌های تحت تنش، شاهد آبیاری بود و هر زمان که گلدان های شاهد نیاز به آبیاری داشتند گلدان‌های تحت تنش نیز آبیاری شدند. با توجه به شرایط پاییز و زمستان، زمان آبیاری تقریباً دو روز در میان بود. تنش خشکی از مرحله سه تا چهار برگی شروع و تا آخر فصل رشد ادامه داشت (Ziaei *et al.*, 2017). محلول‌پاشی در اوایل مرحله گل‌دهی (۵۵ روز پس از انتقال از سینی‌های نشاء به گلدان‌های اصلی) انجام شد و در پایان مرحله گل‌دهی، پس از اندازه‌گیری صفات ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، طول غلاف و طول ریشه، گیاهان جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند تا سایر صفات مورد نظر اندازه‌گیری شوند. بدین منظور، صفات قند احیایی (به روش Miller 1959)، پروتئین کل (به روش Markwell *et al.*, 1981)، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) به روش Reymond (*et al.*, 1993) اندازه‌گیری شدند. بدین صورت که جهت اندازه‌گیری قندهای احیایی ml ۱/۵ از عصاره تغلیظ شده حاصل از استخراج قندهای محلول با ml ۱/۵ معرف دی نیترو سالیسیلیک اسید ترکیب و در حمام آب گرم در مدت زمان بیست دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار شد. بعد از گذشت این مدت ml ۰/۵ پتاسیم سدیم تارتاراتِ ۴۰ درصد، به مخلوط فوق اضافه و سپس جذب نور آن، در طول موج ۵۷۵ نانومتر خوانده و به کمک اعداد بدست آمده، نمودار استاندارد رسم شد. جهت اندازه‌گیری پروتئین کل ابتدا لوله‌های آزمایش ۱۰۰×۱۲ میلی‌متری انتخاب و ۵۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی استخراج شده با ml ۳ معرف مس قلیایی ترکیب و مخلوط بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس ml ۰/۳ از معرف فولین رقیق شده اضافه و عمل ورتکس انجام شد. بعد از گذشت ۴۵ دقیقه جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده و به کمک اعداد بدست آمده، نمودار استاندارد رسم شد. فعالیت آنزیم پلی فنل پراکسیداز نیز از طریق روش اسپکتوفتومتری در مد سینتیکی در طول موج ۴۲۰ نانومتر بررسی گردید. وزن خشک برگ، از طریق جداسازی برگ‌های بوته‌ها در هر گلدان و قرار گرفتن آن‌ها در دمای ۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد در آون به مدت ۴۸ ساعت ارزیابی شد. برای اندازه‌گیری صفات مربوط به ریشه، نمونه‌ها به دقت از خاک جداسازی و بوسیله صافی و توری شستشو داده شد تا حداکثر ریشه‌ها قابل برداشت باشند. جهت جلوگیری از پلاسیده شدن، ریشه‌ها داخل پاکت پلاستیکی و در دمای یخچال قرار گرفتند.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Soil physicochemical properties at the experimental location

بافت خاک Soil texture	پتاسیم Potassium (mg kg^{-1})	فسفر Phosphorous (mg kg^{-1})	منگنز Manganese (mg kg^{-1})	روی Zinc (mg kg^{-1})	ماده آلی Organic matter (%)	نیتروژن Nitrogen (%)	هدایت الکتریکی EC (dS m^{-1})	اسیدیته pH
سیلت لوم Loamy silt	92	13	0.961	0.348	0.2	0.02	2.9	8.6

جهت تعیین وزن خشک ریشه، از هر گلدان دو ریشه استخراج و پس از قرارگرفتن در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، وزن آن با ترازوی دقیق اندازه‌گیری و میانگین دو بوته منظور گردید. برای اندازه‌گیری طول ریشه نیز از محل زیر طوقه تا انتهای ریشه اصلی مبنای محاسبه قرار گرفت(Ziaei *et al.*,2017).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 17 و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

اثر تنش خشکی بر ارتفاع بوته گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین ارتفاع بوته در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در این تیمار، ارتفاع بوته به بیش از ۴۲ سانتی‌متر رسید. در دو تیمار دیگر، ارتفاع بوته کمتر از ۳۵ سانتی‌متر بود و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). به عبارت دیگر، سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۳۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، به ترتیب با ۱۸/۲ و ۲۰/۵ درصد کاهش، بطور معنی‌داری ارتفاع بوته کمتری داشتند. به نظر می‌رسد که ارتفاع بوته تحت شرایط تنش خشکی، بواسطهٔ از بین رفتن تورژسانس سلول‌ها و تخصیص فراورده‌های فتوسنتزی به مکانیسم‌های مقابله با تنش و نیز گرایش گیاه به سمت استفاده از مکانیسم فرار از خشکی و کوتاه شدن طول دوره رشد گیاه کاهش یافته است (Ashouri *et al.*, 2022). در همین ارتباط، طی مطالعه اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر عملکرد و اجزای عملکرد و برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک ارقام عدس تحت تنش شوری، کاهش معنی‌دار ارتفاع ارقام عدس طی اعمال تیمارهای شوری مشاهده شد (Kayad Nezami *et al.*, 2012). علاوه بر این، اثر محلول‌پاشی بر ارتفاع بوته گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین صورت که محلول‌پاشی با کربنات کلسیم نسبت به شرایط محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و عدم محلول‌پاشی سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته گردید. اما بین دو تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و عدم محلول‌پاشی، از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در شرایط محلول‌پاشی با کربنات کلسیم، ارتفاع بوته به بیش از ۳۹/۵ سانتی‌متر رسید. درحالی‌که در دو تیمار دیگر، ارتفاع بوته کمتر از ۳۷ سانتی‌متر بود (جدول ۴). به نظر می‌رسد که این اثر مثبت کلسیم می‌تواند ناشی از تأثیر آن بر بهبود یکپارچگی دیواره‌های سلولی و هم‌چنین اثربخشی آن در کاهش پتانسیل اسمزی و حفظ فشار تورژسانس سلول‌ها باشد (Ibrahim *et al.*, 2016).

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گوار

Table 2- ANOVA for some morhpo-physiological traits of *Cyamposis tetragonoloba*

منابع تغییر S.o.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	تعداد غلاف در بوته No. of pods per plant	تعداد دانه در غلاف No. of seeds per pod	طول غلاف Pod length	پروتئین کل Total protein	قند احیایی Reduction sugar	پلی فنل اکسیداز PPO	وزن خشک برگ Dry weight of leaf	وزن خشک ریشه Dry weight of root	طول ریشه Root length
تنش خشکی Drought stress (D)	2	202 **	18.1 *	2.10 **	3.18 **	50.3 **	0.155 **	0.973 **	0.0005 **	0.0004 **	59.6 **
محلول‌پاشی Spraying (S)	2	64.3 **	17.4 *	0.445 ns	0.816 ns	22.1 **	0.044 **	0.069 **	0.0001 **	0.000005 ns	0.970 *
تنش خشکی × محلول‌پاشی D × S	4	22.2 ns	0.889 ns	0.057 ns	0.210 ns	0.284 ns	0.003 ns	0.026 **	0.000006 ns	0.000001 ns	0.131 ns
خطا Error	18	9.04	3.11	0.184	0.324	1.45	0.002	0.009	0.000009	0.000002	0.172
ضریب تغییرات CV (%)	-	8.15	13.34	10.26	11.01	10.78	3.61	15.94	13.04	4.28	3.18

ns، * و **: به ترتیب، غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد

ns, * and **: non-significant, significant in 5% and 1% level, respectively

جدول ۳- مقایسات میانگین اثر تنش خشکی بر روی صفات مورد مطالعه در گیاه کوار

Table 3– Mean comparisons of drought stress effect on studied traits in *Cyamposis tetragonoloba*

تنش خشکی بر اساس ظرفیت زراعی Drought stress based on FC (%)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد غلاف در بوته No. of pods per plant	تعداد دانه در غلاف No. of seeds per pod	طول غلاف Pod length (cm)	پروتئین کل Total protein (mg gFW^{-1})	قند احیایی Reduction sugar (mg gFW^{-1})	وزن خشک برگ Dry weight of leaf (g plant^{-1})	وزن خشک ریشه Dry weight of root (g plant^{-1})	طول ریشه Root length (cm)
70	42.3 a	14.8 a	4.73 a	5.84 a	13.2 a	1.09 c	0.031 a	0.026 c	10.2 c
50	34.6 b	12.8 b	4.00 b	4.94 b	11.7 b	1.29 b	0.022 b	0.035 b	13.7 b
30	33.6 b	12.0 b	3.82 b	4.72 b	8.60 c	1.35 a	0.016 c	0.039 a	15.2 a

میانگین‌های دارای حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD با یکدیگر ندارند.

Means that have a same letter, have not significantly different together at 5% based on LSD test.

جدول ۴- مقایسات میانگین اثر محلول‌پاشی بر روی صفات مورد مطالعه در گیاه کوار

Table 4– Mean comparisons of spraying effect on studied traits in *Cyamposis tetragonoloba*

محلول‌پاشی Spraying (3 ‰)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد غلاف در بوته No. of pods per plant	پروتئین کل Total protein (mg gFW^{-1})	قند احیایی Reduction sugar (mg gFW^{-1})	وزن خشک برگ Dry weight of leaf (g plant^{-1})	طول ریشه Root length (cm)
عدم محلول‌پاشی Non- spraying	34.3 b	11.9 b	9.45 b	1.16 b	0.019 c	12.6 b
آسکوربیک اسید AsA	36.6 b	13.1 b	11.5 a	1.30 a	0.023 b	13.1 a
کربنات کلسیم $CaCO_3$	39.7 a	14.7 a	12.5 a	1.26 a	0.027 a	13.3 a

میانگین‌های دارای حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD با یکدیگر ندارند.

Means that have a same letter, have not significantly different together at 5% based on LSD test.

تعداد غلاف در بوته

اثر تنش خشکی بر تعداد غلاف در بوته گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین تعداد غلاف در بوته در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۱۴/۸ عدد غلاف در بوته مشاهده شد. در تیمارهای ۵۰ و ۳۰ درصد زراعی، تعداد غلاف در هر بوته به ترتیب ۱۲/۸ و ۱۲ عدد بود و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). به بیان دیگر، سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۳۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، به ترتیب با ۱۳/۵ و ۱۸/۹ درصد کاهش، بطور معنی‌داری تعداد غلاف در بوته کمتری از خود نشان دادند. چنین به نظر می‌رسد که عدم تأمین رطوبت کافی در طول دوره زایشی گوار می‌تواند سبب کاهش تعداد غلاف در بوته گردد. چرا که ثابت شده است که فراهمی رطوبت قابل دسترس، در توسعهٔ کانوپی گیاه و افزایش دریافت تشعشع فعال فتوسنتزی توسط کانوپی، نقش بسزایی داشته و کاهش آن می‌تواند باعث نقصان تعداد غلاف در بوته و یا حتی ریزش غلاف‌های تولیدی گردد (Anjom Shoaa *et al.*, 2011). اثر محلول‌پاشی بر تعداد غلاف در بوته گیاه گوار معنی‌دار گردید (جدول ۲). بدین صورت که محلول‌پاشی با کربنات کلسیم نسبت به شرایط محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و عدم محلول‌پاشی سبب افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته شد. اما بین دو تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و عدم محلول‌پاشی، از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در شرایط محلول‌پاشی با کربنات کلسیم، تعداد غلاف در بوته به بیش از ۱۴/۵ عدد رسید. درحالی‌که در دو تیمار دیگر، تعداد غلاف در بوته کمتر از ۱۳/۲ عدد بود (جدول ۴). گزارش شده است که کاربرد کلسیم می‌تواند از طریق افزایش تعداد شاخه‌های فرعی، سبب افزایش تعداد غلاف در بوته بادام‌زمینی گردد (Nobahar *et al.*, 2020). از آنجایی که حبوبات، گیاهانی رشد نامحدود بوده و در این گیاهان، واحدهای زایشی در بخش‌های مختلف کانوپی شکل می‌گیرند (Arshadi, 2016)، لذا به نظر می‌رسد که تأثیر کلسیم در افزایش تعداد شاخه‌های فرعی، می‌تواند نهایتاً منجر

به افزایش تعداد غلاف در بوته گردد.

تعداد دانه در غلاف

اثر تنش خشکی بر تعداد دانه در غلاف گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین تعداد دلنه در غلاف در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی ملاحظه گردید و در این تیمار، تعداد دانه در غلاف بیش از ۴/۷ عدد بود. در دو تیمار دیگر، تعداد دلنه حتی به ۴/۱ عدد در غلاف هم نرسید و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). به بیان دیگر، سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۳۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، به ترتیب با ۱۵/۴ و ۱۹/۲ درصد کاهش، بطور معنی‌داری تعداد دانه در غلاف کمتری داشتند. به نظر می‌رسد که فراهمی رطوبت بیشتر در تیمار ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، در مرحله زایشی توانسته است در شکل‌گیری تعداد دانهٔ بیشتر در غلاف‌ها مؤثر باشد. به عبارت دیگر، افزایش شدت تنش، با کاهش تعداد دانه در غلاف همراه بود. این نتایج با یافته‌های محققین دیگر در توافق است. در یک پژوهش نیز کاهش تعداد دانه در بوته بادام‌زمینی طی افزایش شدت تنش رطوبتی گزارش شده است (Shinde and Laware, 2010). همچنین در دو تحقیق دیگر، طی بررسی اثرات تنش خشکی بر ارقام نخود (Arshadi, 2016) و عدس(Vafaee, 2019)، کاهش تعداد دانه در غلاف طی افزایش شدت تنش خشکی مشاهده شده است. البته هر دوی این محققین اظهار داشتند که واکنش ارقام مختلف گیاهان مورد بررسی به تنش خشکی، متفاوت بود. بطوری که در تحقیق آن‌ها برخی ارقام از این نظر، حساسیت بیشتری به تنش خشکی داشتند و با افزایش شدت تنش، تعداد دانه در غلاف آن‌ها با کاهش بیشتری مواجه شد.

طول غلاف

اثر تنش خشکی بر طول غلاف گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بطوری‌که بیشترین طول غلاف در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی ملاحظه گردید و در این تیمار، طول غلاف به بیش از ۵/۸ سانتی‌متر رسید. در دو تیمار دیگر، طول غلاف کمتر از پنج سانتی‌متر بود و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). به عبارت دیگر، سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۳۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، به ترتیب با ۱۵/۴ و ۱۹/۱ درصد کاهش، بطور معنی‌داری طول غلاف کمتری داشتند. به نظر می‌رسد که فراهمی رطوبت کافی در طول دوره زایشی گوار می‌تواند از طریق اثراتی هم‌چون کمک به جذب عناصر غذایی بیشتر، سبب افزایش طول غلاف آن گردد. در همین ارتباط، مشخص شده است که تنش رطوبتی بواسطهٔ کاهش رشد گیاه باعث کاهش طول غلاف بادام‌زمینی شد و از این طریق سبب اُفت عملکرد دانهٔ این گیاه گردید (Abdzad Gohari and Amiri, 2018). در تحقیقی دیگر، تنش خشکی بواسطهٔ کاهش رشد طولی سلول‌ها در پیکرهٔ گیاه سبب کاهش ارتفاع بوته و طول غلاف در ارقام سویا شد (Mehraban *et al.*, 2016).

پروتئین کل

اثر تنش خشکی بر روی میزان پروتئین کل گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بطوری‌که بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در این تیمار، میزان پروتئین کل به بیش از ۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ، رسید (جدول ۳). سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۳۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، به ترتیب ۱۱/۳ و ۳۴/۸ درصد، بطور معنی‌داری پروتئین کل کمتری داشتند. هم‌چنین در ظرفیت زراعی ۳۰ درصد، نسبت به ظرفیت زراعی ۵۰ درصد پروتئین کل بطور معنی‌داری و به میزان ۲۶/۵ درصد کاهش داشت (جدول ۳). کاهش پروتئین کل می‌تواند نشان از انجام مکانیسم مقاومت به خشکی در گیاه باشد. چرا که زمانی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد، تجزیه پروتئین‌ها با هدف افزایش آمینواسیدها و آمیدها تسریع می‌شود (Kafi *et al.*, 2018). اثر محلول‌پاشی بر میزان پروتئین کل گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بطوری‌که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم سبب افزایش میزان پروتئین کل گردید؛ اما بین دو تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و در این دو تیمار، میزان پروتئین کل به بیش از ۱۱/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ رسید. درحالی‌که در تیمار عدم محلول‌پاشی، میزان پروتئین کل کمتر از ۹/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود (جدول ۴). مطالعات نشان داده‌اند که استعمال خارجی برخی ترکیباتِ آنتی‌اکسیدان مانند اسید آسکوربیک می‌تواند در

افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی و تنش‌های ثانویه پس از آن، هم‌چون تنش اکسیداتیو مؤثر باشد (Alayafi, 2020). بیشترین میزان پروتئین کل در ارقام ذرت، در هر دو شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی، در گیاهان محلول‌پاشی شده با کلسیم (کلسیم کلرید دی‌هیدرات) مشاهده شد (Abbas *et al.*, 2021). این محققین بیان نمودند که پروتئین‌های متصل به کلسیم که به عنوان حسگرهای کلسیم عمل می‌کنند، سطوح کلسیم بالا را درک می‌کنند؛ این موضوع می‌تواند منجر به فعال شدن پروتئین کینازهای وابسته به کلسیم شده و سطح پروتئین را در گیاه افزایش دهد.

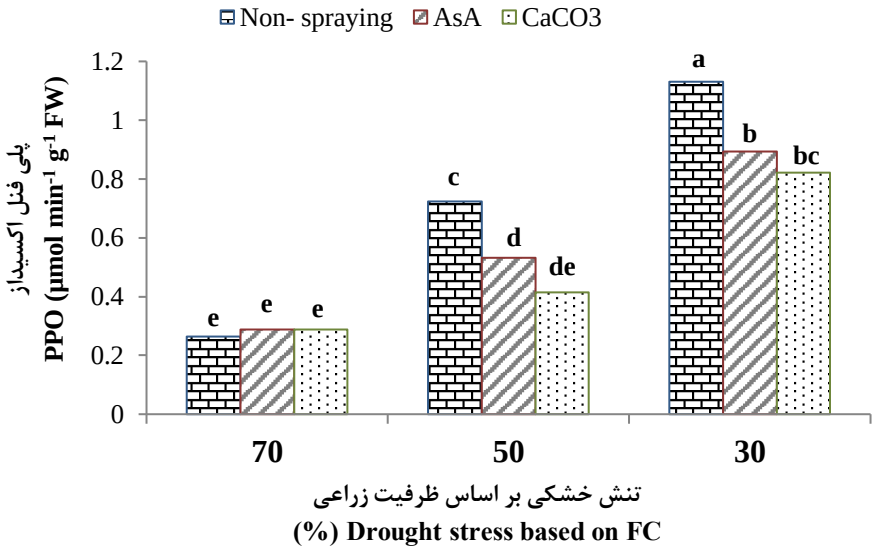
قند احیایی

اثر تنش خشکی بر روی میزان قند احیایی گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین میزان قند احیایی در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در این تیمار، میزان قند احیایی به بیش از ۱/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ، رسید (جدول ۳). سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۷۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۳۰ درصد، به ترتیب ۴/۴۴ و ۱۹/۲ درصد، بطور معنی‌داری قند احیایی کمتری داشتند. هم‌چنین در ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، نسبت به ظرفیت زراعی ۵۰ درصد قند احیایی بطور معنی‌داری و به میزان ۱۵/۵ درصد کمتر بود (جدول ۳). افزایش قندهای احیایی، یک ساز و کار مقابله با خشکی در گیاه محسوب می‌شود. زیرا که قندهای احیایی از جمله اسمولیت‌هایی هستند که در داخل یاخته‌های گیاهی به عنوان تنظیم کننده پتانسیل اسمزی محیط داخل سلول ایفای نقش می‌کنند (Kafi *et al.*, 2018). در گیاهانی که قندهای محلول در آن‌ها طی پاسخ به تنش خشکی تجمع پیدا می‌کنند، تنظیم اسمزی بهتر صورت گرفته و این موضوع می‌تواند در جذب آب، مفید واقع شود (Slama *et al.*, 2007). هرچند که این استراتژی برای گیاه، مستلزم صرف هزینه خواهد بود. اثر محلول‌پاشی بر میزان قند احیایی گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بطوری‌که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم سبب افزایش میزان قند احیایی گردید؛ اما بین دو تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و در این دو تیمار، میزان قند احیایی بیش از ۱/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود. در حالی که در تیمار عدم محلول‌پاشی، میزان قند احیایی کمتر از ۱/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود (جدول ۴). به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم در افزایش قندهای احیایی، مؤثر بوده و از آنجایی که افزایش قندهای احیایی در منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول‌های برگ و جذب آب بهتر مؤثر است (Kafi *et al.*, 2018)، لذا احتمالاً استعمال خارجی اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم در جذب آب بهتر برای گیاه گوار مؤثر باشد. مشخص شده است که کاربرد خارجی کربنات کلسیم تأثیر مثبتی بر مواد معدنی برگ (هم‌چون نیتروژن، فسفر، کلسیم و پتاسیم) و هم‌چنین اسمولیت‌های آلی برگ (هم‌چون پرولین و قندهای محلول) داشته است (Hussain *et al.*, 2015).

فعالیت PPO

اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم PPO گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). در تیمار ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، بین سطوح محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و در این سطح از تنش، میزان فعالیت PPO حتی به ۳/. میکرومول در دقیقه بر وزن تر برگ هم نرسید (شکل ۱). اما با افزایش شدت تنش خشکی از ۷۰ به ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، فعالیت آنزیم PPO نیز بطور معنی‌دار و قابل توجهی افزایش یافت و بیشترین فعالیت آنزیم PPO در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی مشاهده شد (شکل ۱). در ظرفیت زراعی ۵۰ درصد، با انجام محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم، فعالیت PPO بطور معنی‌داری کاهش یافت. اما بین سطوح محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱). هم‌چنین در ظرفیت زراعی ۳۰ درصد روند مشابهی در ظرفیت زراعی ۵۰ درصد مشاهده شد. بطوری‌که با انجام محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم، فعالیت PPO بطور معنی‌داری کاهش یافت. اما در این سطح از تنش نیز بین سطوح محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱). مطالعات نشان داده‌اند که با افزایش شدت تنش خشکی، فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه دچار اختلال شده و سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در بافت‌های گیاهی افزایش می‌یابند. این امر، متقابلاً گیاه را وادار به ارتقای سطح ترکیبات

آنتی‌اکسیدانتی در بافت‌های خود می‌کند تا ROSها را مورد پاکسازی قرار دهد (Kapoor *et al.*, 2020). افزایش فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی، یک مکانیسم دفاعی برای حفظ فرایندهای سلولی و ممانعت از بروز اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه به شمار می‌رود (Kafi *et al.*, 2018). هرچند افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در کنترل ROSها مؤثر است (Arzani *et al.*, 2010)، اما تداوم فعالیت آن، می‌تواند از طریق افزایش تنفس گیاهی، در کاهش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی تأثیرگذار باشد (Jahani *et al.*, 2013). لذا بهتر است تا از افزایش بیش از حد فعالیت آن ممانعت شود. بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، احتمالاً کاربرد اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم در شرایط تنش خشکی، سبب کاهش فعالیت آنزیم PPO می‌گردد. اعمال تنش شوری در گیاه جو، سبب افزایش فعالیت آنزیم PPO گردید؛ اما افزودن تیمار کلسیم به محیط شور، سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم PPO در برگ‌های جو شد (Jahani *et al.*, 2013). هم‌چنین با توجه به اینکه اسید آسکوربیک، از طریق انتشار در سیتوزول سلول‌های گیاه در زمان تنش، سبب کاهش ROSها می‌شود (Shafiq *et al.*, 2014)، لذا به نظر می‌رسد که کاربرد آن می‌تولند بواسطهٔ کاهش سطح ROSها، در تعدیل فعالیت آنزیم PPO مؤثر باشد.



شکل ۱- مقایسات میانگین اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی بر روی پلی فنل اکسیداز گیاه کوار

Figure 1– Mean comparisons of spraying effect on studied traits in *Cyamposis tetragonoloba*

میانگین‌های دارای حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD با یکدیگر ندارند.

Means that have a same letter, have not significantly different together at 5% based on LSD test.

وزن خشک برگ

اثر تنش خشکی بر روی وزن خشک برگ گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین وزن خشک برگ در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در این تیمار، وزن خشک برگ به بیش از ۰/۰۳ گرم بر بوته، رسید. در دو تیمار دیگر، وزن خشک برگ کمتر از ۰/۰۲۳ گرم بر بوته، بود (جدول ۳). سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۳۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، به ترتیب ۲۹/۰ و ۴۸/۴ درصد، بطور معنی‌داری وزن خشک برگ کمتری داشتند. هم‌چنین در ظرفیت زراعی ۵۰ درصد، نسبت به ظرفیت زراعی ۳۰ درصد، وزن خشک برگ، بطور معنی‌داری و به میزان ۲۷/۳ درصد کاهش پیدا کرد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که تنش خشکی بواسطهٔ کاهش محتوی آب سلول‌ها و هم‌چنین صرف بخشی از انرژی گیاه برای راه‌اندازی مکانیسم‌های مقابله با تنش خشکی، سبب کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاه شده (Chimenti *et al.*, 2006) و این موضوع به دنبال خود، کاهش تولید ماده خشک و

نهایتاً کاهش وزن خشک برگ را به همراه داشته است. اثر محلول‌پاشی بر وزن خشک برگ گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین صورت که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی سبب افزایش وزن خشک برگ گردید؛ البته محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک نیز نسبت به کربنات کلسیم از برتری معنی‌دار و ۱۴/۸ درصدی برخوردار بود (جدول ۴). با توجه به اینکه وزن خشک برگ، معیاری از وزن خشک اندام فتوسنتزکننده است، به نظر می‌رسد که افزایش وزن آن، می‌تواند در افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه تأثیر بسزایی داشته باشد. بطور کلی عمل محلول‌پاشی، بواسطهٔ تأثیر بر جذب سریع عناصر توسط گیاه و افزایش توان فتوسنتزی برگ‌ها می‌تواند سبب افزایش بیوماس گیاه گردد (AL-Jobori and AL-Hadithy, 2014). در تحقیق حاضر، این پدیده در محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم بر روی برگ‌های گیاه گوار، کاملاً مشهود بود. مشخص شده است که کلسیم ضمن تقویت استحکام دیواره‌های سلولی، با تأثیر بر انباشته شدن اسمولیت‌های سازگار در سلول، باعث منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول شده و بدین طریق در کنترل اثرات مخرب تنش خشکی مؤثر است (Souguir and Hannachi, 2017).

وزن خشک ریشه

اثر تنش خشکی بر روی وزن خشک ریشه گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در این تیمار، وزن خشک ریشه به ۰/۰۳۹ گرم بر بوته، رسید. در دو تیمار دیگر، وزن خشک برگ کمتر از ۰/۰۳۶ گرم بر بوته، بود (جدول ۳). سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۷۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۳۰ درصد، به ترتیب ۱۰/۲ و ۳۳/۳ درصد، بطور معنی‌داری وزن خشک ریشه کمتری داشتند. هم‌چنین در ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، نسبت به ظرفیت زراعی ۵۰ درصد، وزن خشک ریشه، بطور معنی‌داری و به میزان ۲۵/۷ درصد کمتر بود (جدول ۳). چنین به نظر می‌رسد که با افزایش شدت تنش، گیاه تلاش کرده است تا با توسعه ریشه‌های خود، دسترسی خود را به رطوبت افزایش دهد. هرچند که اختصاص ماده خشک بیشتر به ریشه‌ها، کاهش محسوس وزن خشک اندام هوایی را به دنبال خواهد داشت (Arshadi, 2016). البته برخی محققین، کاهش وزن خشک ریشه را طی افزایش شدت تنش خشکی گزارش کردند. به عنوان مثال، اثر تنش خشکی بر خصوصیات ریشه گیاه دارویی زوفا یک کاهش ۵۶ درصدی در وزن خشک ریشه را تحت اعمال تنش خشکی شدید به همراه داشت (Rosam *et al.*, 2012).

طول ریشه

اثر تنش خشکی بر روی طول ریشه گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بدین ترتیب که بیشترین طول ریشه در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در این تیمار، طول ریشه به بیش از ۱۵ سانتی‌متر، رسید (جدول ۳). سطوح ظرفیت زراعی ۵۰ و ۷۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۳۰ درصد، به ترتیب ۹/۸۷ و ۳۲/۹ درصد، بطور معنی‌داری طول ریشه کمتری داشتند. هم‌چنین در ظرفیت زراعی ۷۰ درصد، نسبت به ظرفیت زراعی ۵۰ درصد طول ریشه بطور معنی‌داری و به میزان ۲۵/۵ درصد کمتر بود (جدول ۳). مطالعات نشان داده‌اند که با افزایش شدت تنش، گیاه با تغییر فرم توزیع ریشه‌ها و با توسعه ریشه‌های خود به سمت عمق خاک، در جهت افزایش دسترسی خود به رطوبت حرکت می‌کند (Kafi *et al.*, 2018). در بررسی خصوصیات ریشه سه گونه گراس فستوکای تجاری، لولیوم و تال فسکیو در شرایط تنش خشکی مشخص شد که توده بومی تال فسکیو، از طریق افزایش طول ریشه‌های خود و فراهمی رطوبت قابل دسترس، در استفاده از مکانیسم اجتناب از خشکی جهت مقابله با آن موفق‌تر بوده است (Selahvarzi *et al.*, 2008). این پژوهشگران اظهار داشتند که توده بومی تال فسکیو، در شرایط آبیاری کامل و بدون تنش، کمترین میزان مجموع طول ریشه‌ها را دارا بود؛ اما طی اعمال یک دوره تنش خشکی ۱۵ روزه، با ۷۰/۱ درصد افزایش نسبت به شاهد، بالاترین مجموع طول ریشه را به خود اختصاص داد. اثر محلول‌پاشی بر طول ریشه گیاه گوار معنی‌دار شد (جدول ۲). بطوری‌که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم سبب افزایش میزان طول ریشه گردید؛ اما بین دو تیمار محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کربنات کلسیم از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و در این دو تیمار، طول ریشه بیش از ۱۳ سانتی‌متر بود. درحالی‌که در تیمار عدم محلول‌پاشی، میزان طول ریشه کمتر از ۱۲/۷

سانتی‌متر بود (جدول ۴). در همین راستا، افزودن تیمار کلسیم تحت اعمال تنش شوری سبب افرایش معنی‌دار وزن ریشه‌های جو شد که خود توسعه ریشه‌های این گیاه را به همراه داشت (Jahani *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری کلی

در این پژهش، با اعمال سطوح تنش خشکیِ ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، نسبت به تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی، صفات ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، طول غلاف، وزن خشک برگ و پروتئین کل روندی کاهشی داشتند و صفات قند احیایی، فعالیت آنزیم PPO و طول و وزن خشک ریشه روندی افزایشی نشان دادند. هم‌چنین محلول‌پاشی کلسیم، نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک، صفات ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته و وزن خشک برگ را بطور معنی‌داری افزایش داد. علاوه بر این، محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کلسیم، نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی، میزان پروتئین کل، قند احیایی و طول ریشه را بطور معنی‌داری افزایش و فعالیت آنزیم PPO را بطور معنی‌داری کاهش داد. داده‌های حاصل از این پژوهش، نشان می‌دهند که فراهمی رطوبت در حد مقادیر کمتر از ۷۰ درصد ظرفیت زراعی، باعث شکل‌گیری مکانیسم‌های مقابله با تنش خشکی در گیاه گوار شده و این مکانیسم‌ها بخش قابل توجهی از انرژی و ماده خشک تولیدی را به خود مشغول می‌کنند. هرچند که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و کلسیم، در تعدیل اثرات تنش خشکی بر روی این گیاه تأثیرگذار می‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه سیستان و بلوچستان جهت حمایت مالی از این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌نمایند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در رابطه با نشر این مقاله وجود ندارد.

References

Abbas, M., Abdel-Lattif, H. and Shahba, M., 2021. Ameliorative Effects of Calcium Sprays on Yield and Grain Nutritional Composition of Maize (*Zea mays* L.) Cultivars under Drought Stress. *Agriculture*, *11*, pp.285. **doi: 10.3390/agriculture11040285**

Abdzad Gohari, A. and Amiri, E., 2018. Evaluations of production function and water productivity of peanut plant (*Guil cv.*) under irrigation conditions and nitrogen fertilizer. *Journal of Water Research in Agriculture (Soil and Water Sciences)*, *32*(1), pp.55-66. [In Persian]. **doi: 10.22092/jwra.2018.116600**

Abogadallah, G.M., 2010. Anti-oxidative defense under salt stress. *Plant Signaling & Behavior*, *5*(4), pp.369-374. **doi: 10.4161/psb.5.4.10873**

Akram, N.A., Shafiq, F. and Ashraf, M., 2017. Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Front Plant Sciences*, *8*, pp.613. **doi: 10.3389/fpls.2017.00613**

Alayafi, A.A.M., 2020. Exogenous ascorbic acid induces systemic heat stress tolerance in tomato seedlings: transcriptional regulation mechanism. *Environmental Science & Pollution Research*, *27*, pp.19186–19199. **doi: 10.1007/s11356-019-06195-7**

AL-Jobori, K.M.M. and AL-Hadithy, S.A., 2014. Response of potato (*Solanum Tuberosum*) to foliar application of iron, manganese, copper and zinc. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *7*, pp.358-363. **doi: 10.9790/2380-0904018791**

Ali, S., Hayat, K., Iqbal, A. and Xie, L., 2020. Implications of abscisic acid in the drought stress tolerance of plants.

Agronomy, 10, pp.1323. **doi: 10.3390/agronomy10091323**

Anjom Shoaa, S., Moeinrad, H. and Ebrahimi, H., 2011. The effects of different irrigation levels on grain yield and yield components of four chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.) in Mashhad climatic condition. *Iranian Journal of Pulses Research, 2*(2), pp.69-82. [In Persian]. **doi: 10.22067/IJPR.V2I2.19043**

Arshadi, M.J., 2016. Investigation of the effect of seeds inoculation of chickpea (*Cicer arietinium* L.) with arbuscular mycorrhiza and pseudo-endomycorrhiza in response to drought stress. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. [In Persian].

Arzani, K., Khoshghalb, H., Malakouti, M.J. and Barzegar, M.**,** 2010. Effect of Ca, Zn and B applications and harvest time on fruits polyphenol oxidase (PPO) activity in two Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars during storage. *Journal of Crops Improvement, 12*(2), pp.1-9. [In Persian]. **dor: 20.1001.1.83372008.1389.12.2.1.0**

Ashouri, M., Khoshouei, Z., Doroudian, H.R., Amiri, E. and Mohammadian Rowshan, N., 2022. Effect of irrigation management, municipal waste compost and nitrogen fertilizer on seed yield and some morpho-physiological traits of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Crop Science Research in Arid Regions, 3*(2), pp.339-357. [In Persian]. **doi: 10.22034/CSRAR.2021.296728.1109**

Chimenti, C.A., Marcantonio, M. and Hall, A.J., 2006. Divergent selection for osmotic adjustment results in improved drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) in both early growth and flowering phases. *Field Crops Research, 95*, pp.305-315. **doi: 10.1016/j.fcr.2005.04.003**

Darvishan, M., Tohidi-Moghadam, H.R. and Zahedi, H., 2013. The effect of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on physiological and biochemical changes of corn (*Zea mays* L.) under irrigation withholding in different growth stages. *Maydica, 58*, pp.195-200.

Ezati, N., Maleki, A. and Fathi, A., 2019. Effect of drought stress and spraying of gibberellic acid and salicylic acid on the quantitative and qualitative yield of canola (*Brassica napus*). *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 14*(56), pp.94-109. [In Persian].

Fanaei, H.R., Alavi, M.G., Kafi, M. and Ghanbari Bonjar, A., 2009. Amelioration of water stress by potassium fertilizer in two oilseed species. *Journal of Plant Production, 3*(2), pp.41-54. **doi: 10.22069/IJPP.2012.640**

Fathi, A., Maleki, A. and Naseri, R., 2022. A review of the effects of drought stress on plants and some effective strategies in crop management. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, Published online. [In Persian]. **doi: 10.30495/iper.2022.1944163.1744**

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

Grenzi, M., Resentini, F., Vanneste, S., Zottini, M., Bassi, A. and Costa, A., 2021. Illuminating the hidden world of calcium ions in plants with a universe of indicators. *Plant Physiology*, *187*(2), pp.550–571. **doi: 10.1093/plphys/kiab339**

Grover, K., Singla, S., Angadi, S., Begna, S., Schutte, B. and Leeuwen. D., 2016. Growth and yield of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) genotypes under different planting dates in the semi-arid southern high plains.

American Journal of Plant Sciences, 7, pp.1246-1258. **doi: 10.4236/ajps.2016.78120**

Gul, A., Salam, A., Afridi, M.S., Bangash, N.K., Ali, F., Ali, M.Y., Khan, S. and Mubeeen, R., 2019. Effect of urea, bio-fertilizers and their interaction on the growth, yield and yield attributes of *Cyamopsis Tetragonoloba. Indian Journal of Agricultural Research, 53*(4), pp.423-428. **doi: 10.18805/IJARe.A-395**

Halit, Y., Mehmet, E., Caliskan Soner, S. and Musa, S., 2006. Some physiological and growth responses of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) grafted onto Lagenaria siceraria to flooding. *Environmental & Experimental Botany, 58*, pp.1-8. **doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.06.010**

Hema, Y. and Shalendra, A., 2014. An Analysis of Performance of Guar Crop in India, Guar Cultivation Practices pp.17-31 Prepared by CCS National Institute of Agricultural Marketing and Jaipur for United States Department of Agriculture (USDA), New Delhi.

Hossieni Nezhad, N., 2021. Effect of different levels of drought, ascorbic acid and calcium on some morpho-physiological and biochemical traits of *Cyamposis tetragonoloba*. Msc. theses, Department of Biology, University of Sistan and Baluchestan. [In Persian].

Hussain, S., Saleem, M.F., Iqbal, J., Ibrahim, M., Ahmad, M., Nadeem, S.M., Ali, A. and Atta, S., 2015. Abscisic acid mediated biochemical changes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown under drought and well-watered field conditions. *Journal of Animal & Plant Sciences, 25*, pp.406-416.

Ibrahim, S., Sabudin, S., Sahid, S., Marzuke, M.A., Hussin, Z.H., Kader Bashah, N.S. and Jamuna-Thevi, K., 2016. Bioactivity studies and adhesion of human osteoblast (hFOB) on silicon-biphasic calcium phosphate material. *Saudi Journal of Biological Sciences, 23*(1), pp.56-63. **doi: 10.1016/j.sjbs.2015.10.024**

Jahani, S., Lahuti, M. and Jahani, M., 2013. Investigating the interaction effect Na^{2+}-Ca^{2+} on biomass and activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes in barley leaves. *Crops Physiology*, *5*(20), pp.15-26. [In Persian].

Kafi, M., Borzuie, A., Salehi, M., Kamandi, M., Masumi, A. and Nabati, J., 2018. Physiology of Environmental Stresses in Plants. Jihad Daneshgahi Publications of Mashhad, pp.502. [In Persian].

Kayad Nezami, R., Baluchi, H.R. and Yadavi, A., 2012. Effect of foliar application of salicylic acid on yield and yield components and some physiological traits of lentil (*Lens culinaris* Medik) cultivars under salinity stress. *Iranian Journal of Pulses Research*, *3*(2), pp.97-110. [In Persian]. **doi: 10.22067/IJPR.V1391I2.24708**

Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M. and Sharma, A., 2020. The Impact of Drought in Plant Metabolism: How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production. *Applied Science, 10*, pp.5692. **doi: 10.3390/app10165692**

Markwell, M.A.K., Haas, S.M., Tolbert, N.E. and Bieber, L.L., 1981. Protein determination in membrane and lipoprotein samples: Manual and automated procedures. *Methods in Enzymology*, *72*, pp.296-303. **doi: 10.1016/s0076-6879(81)72018-4**

Mehraban, A., Aziziyan Sharmeh, A. and Kamali Delju, A., 2016. Investigation of drought stress on yield and quality of eight soybean cultivars in Sistan region. *Journal of Plant Environmental Physiology*, *11*(43), pp.90-99. [In Persian].

Miller, G.L., 1959. Use of Dinitro Salicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *American Chemical Society, 31*(3), pp.426-428. **doi: 10.1021/ac60147a030**

Nobahar, A., Mostafavi Rad, M., Zakerin, H.R., Seyf Zadeh, S. and Vold Abadi, A.R., 2020. Growth characteristics and seed yield of peanut (*Arachis hypogea* L.) as affected by topping height and application methods of zinc and calcium nano chelates. *Seed & Plant Production Journal, 35*(2), pp.183-203. [In Persian]. **doi: 10.22092/SPPJ.2020.122370.1041**

Pathak, R. and Roy, M.M., 2015. Climatic responses, environmental indices and interrelationships between qualitative and quantitative traits in Cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub.) under arid conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B*: *Biological Sciences, 85*(1), pp.147-154. **doi: 10.1007/s40011-013-0269-4**

Reymond, J., Pakariyathan, N. and Azanza, J., 1993. Purification and some properties of polyphenol oxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry, 34*(4), pp.927-931. **doi: 10.1016/S0031-9422(00)90689-7**

Rosam, GH., Khoshnoud Yazdi, A., Dadkhah, A.R. and Rostami, M., 2012. The effect of drought stress on root and shoot characteristics of the Medicinal plant of hyssop. National Conference of Natural Products and Medicinal Plants, October 2011. [In Persian].

Selahvarzi, Y., Tehranifar, A., Gazanchian, A. and Arooei, H., 2008. Drought resistance mechanisms of native and commercial turf grasses under drought stress: I. Root responses. *Journal of Horticultural Sciences, 22*(2), pp. 1-11. [In Persian]. **doi: 10.22067/JHORTS4.V1387I2.1080**

Shafiq, S., Akram, N.A., Ashraf, M. and Arshad, A., 2014. Synergistic effects of drought and ascorbic acid on growth, mineral nutrients and oxidative defense system in canola (*Brassica napus* L.) plants. *Acta Physiologiae Plantarum, 36*, pp.1539-1553. **doi: 10.1007/s11738-014-1530-z**

Shinde, B.M. and Laware, L. 2010. Effect of drought stress on agronomic contributing characters in Groundnut (*Arachis Hypogae* L.). *Asian Journal of Experimental Biological Sciences, 1*, pp.968-971. [In Persian].

Singh, S.K., 2014. An analysis of guar crop in India. 2014. Report prepared by NIAM, Jaipur for United States Department of Agriculture (USDA), New Delhi.

Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savouré, A. and Abdelly, C., 2007. Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. *Environmental & Experimental Botany, 61*, pp.10-17. **doi: 10.1016/j.envexpbot.2007.02.004**

Souguir, M. and Hannachi, C., 2017. Response of sesame seedlings to different concentrations of humic acids or calcium nitrate at germination and early growth. *Cercetări Agronomice în Moldova, 169*, pp.65-77. **doi: 10.1515/cerce-2017-0005**

Taiz, L. and Zeiger, E., 2006. Plant Physiology. Sinauer Associates. Inc. Publishers.

Vafaei, M.H., 2019. Screening of lentil (*Lens culinaris* Medik) genotypes for drought tolerance and evaluation of some morpho-physiological traits associated with drought stress tolerance under controlled and field conditions. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. [In Persian].

Vaziri, Z., Moussavi Nik, SM., Ghanbari, A. and Asoodar MA., 2017. Effect of seed position on native rootstock

on yield and yield components in guar (*cyamopsis tetragonoloba* l.) under drought stress conditions. *Journal of Crop Science Research in Arid Regions, 1*(2), pp.234-248. **dor: 20.1001.1.2423611.1396.1.2.9.8** [In Persian].

Ziaei, M. Khazaei. H.R and Nezami. A., 2017. Investigation the effect of different levels of irrigation on morph physiological and biochemical traits in five genotypes of mung bean (*Vigna radiate* L.). *Crop Physiology Journal*, *9* (34), pp.5-21. [In Persian].

Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 5, Issue 3, Winter 2023, P. 655-670

The effect of foliar application of ascorbic acid and calcium on the morpho-physiological characteristics of guar under drought stress conditions

Nezamuddin Hossieni Nejad[1], Seyed Masoud Ziaei[2], Alireza Einali[1*]

[1] Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
[2] Department of Plant Production, Faculty of Agriculture, Higher Education Complex of Saravan, Saravan, Iran
[*]Corresponding Author: aeinali@science.usb.ac.ir

Received: 1 November 2022 Accepted: 2 February 2023 **DOI: 10.22034/CSRAR.2023.368010.1286**

Abstract

Introduction: Guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) is an annual plant from the legume family and tolerant to salinity and drought, which can be used as an alternative product in low water plains. Ascorbic acid is one of the antioxidants involved in the defense mechanisms of plants against various stresses, including drought, which plays a role in ROS detoxification. Calcium is also an essential element for plant growth, which, despite being immobile, has many electrochemical, structural and catalytic functions in plants. It has been reported that calcium ions can increase drought tolerance in plants by participating in the drought signal transduction process and stimulating abscisic acid synthesis. Therefore, this research was conducted with the aim of investigating the effect of foliar spraying of ascorbic acid and calcium on some morpho-physiological traits of guar under drought stress conditions.

Materials and Methods: In order to investigate the morpho-physiological responses of guar to foliar application of ascorbic acid and calcium under drought stress conditions, a factorial experiment was conducted with two factors in the form of a randomized complete block design with three replications in the research greenhouse of Saravan Higher Education Complex in 2020. The experimental treatments included three levels of drought stress (70, 50 and 30% of field capacity) and three levels of foliar application (no foliar application, foliar application with calcium carbonate and ascorbic acid with a concentration of 3‰).

Results and Discussion: The results showed that in 50 and 30% of the field capacity, compared to the treatment of 70% of the field capacity, plant height, number of pods per plant, number of seeds per pod, pod length, leaf dry weight and total protein showed a decreasing trend, but traits of reducing sugar, Polyphenol oxidase (PPO) enzyme activity and root length showed an increasing trend. The increase of reducing sugars is considered a mechanism to deal with drought in plants because reducing sugars are osmolytes that play a role in plant cells as regulators of the osmotic potential of the intracellular environment. Similarly, the increase in PPO activity during drought stress is justified by the increase in radical oxygen species generated during this stress, because the increase in the activity of antioxidant compounds as a defense mechanism is essential to maintain cellular processes and prevent the damaging effects of free radicals on plant physiological processes. Foliar application with ascorbic acid did not significantly change plant height and number of pods per plant compared to non-sprayed plants but increased leaf dry weight, total protein, reducing sugar and root length by 22%, 11%, and 21%, respectively. While, calcium foliar application significantly increased plant height, number of pods per plant and leaf dry weight by 16%, 24%, and 42%, respectively compared to non-foliar application and 8.5%, 12%, and 17.5% compared to foliar application with ascorbic acid, but total protein, reducing sugar, root length and dry weight of root remained statistically unchanged in calcium spraying respect to foliar application with ascorbic acid. However, both ascorbic acid and calcium application than no-foliar application showed a significant increase in the amount of total protein, reducing sugar, root length and dry weight of root and a decrease in PPO enzyme activity. The decrease in PPO activity can be considered as a result of reducing the harmful effects of drought stress caused by the application of calcium and ascorbic acid.

Conclusion: In general, it seems that the availability of moisture in less than 70% of the field capacity has caused the formation of mechanisms to deal with drought stress in the guar, but foliar application with ascorbic acid and calcium can somewhat to be effective in modulating the effects of drought stress on this plant.

Keywords: Dry weight of root, Field capacity, Polyphenol oxidase, Reducing sugar, Total protein