تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد ششم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳، ص ۵۵۸-۵۴۱

مقاله پژوهشی

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) و پروتئین دانه تحت سطوح مختلف آبیاری و ترکیبات محرک رشد

محمد کاظم علیلو[۱*]، محسن رشدی[۲]، ساسان رضادوست[۲]، جواد خلیلی محله[۲]

۱- دانشجوی دکتری، گروه کشاورزی، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران

* مسئول مکاتبه: kazemalilou1@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۵ **DOI: 10.22034/CSRAR.2024.351363.1260**

چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف آبیاری و ترکیبات محرک رشد بر خصوصیات بیوشیمیایی و عملکرد لوبیا قرمز، آزمایشی به صورت طرح اسپلت‌پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در روستای پیرموسی شهرستان خوی طی سال ۱۴۰۰ اجرا گردید. آبیاری به عنوان فاکتور اصلی در سه سطح ۸، ۱۱ و ۱۴ روز یک‌بار و ترکیبات محرک رشد به عنوان فاکتور فرعی در ۵ سطح که ۳ مورد به صورت محلول پاشی شامل آمینو اسید، محرک ریشه‌زایی و کود پتاسیم و مصرف هیومیک اسید همراه با آب آبیاری، و عدم مصرف (شاهد) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح آبیاری و محرک‌های رشد تأثیر معنی‌داری بر قند محلول، محتوای آب نسبی برگ، درصد پروتئین و عملکرد دانه داشت. افزایش فاصله آبیاری‌ها محتوای پرولین را افزایش داد و در مقابل سبب کاهش کارتنوئیدها و کلروفیل کل برگ‌ها شد. کاربرد هیومیک اسید به طور معنی‌داری عملکرد دانه و درصد پروتئین دانه را تحت تأثیر قرار داد. با افزایش فاصله آبیاری‌ها، صفات بیوشیمیایی و زراعی مؤثر بر رشد و نمو لوبیا قرمز دچار اختلال گردیده و عملکرد دانه کاهش یافت. هم‌چنین اثر متقابل دو فاکتور مورد بررسی بر پرولین، محتوای آب نسبی برگ، قندهای محلول، درصد پروتئین و عملکرد دانه معنی‌دار بود. بالاترین درصد پروتئین دانه در تیمار آبیاری ۱۴ روز یک‌بار و مصرف کود پتاسیم و هم‌چنین عدم مصرف مواد محرک بدست آمد. به‌طوری‌که بالاترین عملکرد دانه در تیمار آبیاری ۸ روز یکبار و هیومیک اسید به میزان ۳۰۷۶ کیلوگرم در هکتار و حداکثر پروتئین دانه هم در تیمار آبیاری ۱۴ روز یکبار و عدم مصرف مواد محرک به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آمینو اسید، پرولین، درصد پروتئین، کلروفیل برگ، محتوای آب نسبی

مقدمه

ارزش غذایی لوبیا به علت دارا بودن پروتئین و کربوهیدرات‌های بالا، فیبر فراوان و برخی ویتامین‌ها، مواد معدنی، آنتی اکسیدان‌ها و پلی فنل‌ها است (Kumer *et al.*, 2013). برخی از محققان گزارش نمودند که تحت تنش خشکی، کاهش فتوسنتز به دلیل کارایی تثبیت دی‌اکسید کربن در واحد سطح برگ نبوده بلکه به دلیل کاهش سطح فتوسنتز کننده است (Tatrai *et al.*, 2016). گیاه لوبیا به تنش خشکی حساس بوده و عملکرد آن حتی در دوره‌های کوتاه مدت تنش عملکرد کاهش می‌یابد یا صدمه می‌بیند. تنش خشکی باعث کاهش محتوای رطوبتی، منفی‌تر شدن پتانسیل آب برگ و نزول فشار آماس، انسداد روزنه و کاهش بزرگ شدن سلول و رشد آن می‌شود (Jaleel *et al.*, 2009). گیاهان از طریق ساز و کارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی، گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده را کاهش می‌دهند (Puthur, 2016). منابع قابل توجهی وجود دارد که نشان می‌دهد، هیدرولیز پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه خاص از جمله پرولین، بتایین، مشتقات و مواد اولیه حاصل از آن‌ها، می‌تواند باعث تقویت سیستم دفاعی گیاه به انواع مختلف تنش‌های غیر زنده از جمله شوری، خشکی، دما و شرایط اکسید کننده گردند (Du Jardin *et al.*, 2015). کاهش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی می‌تواند به دلیل تغییر متابولیسم نیتروژن و در نتیجه ساخت ترکیباتی نظیر پرولین باشد که در چنین شرایطی در تنظیم اسمزی نقش دارد (Sorkhi *et al.*, 2015). محتوای نسبی آب (RWC[1]) برگ گیاهان با افزایش سطوح تنش آبی کاهش می‌یابد. انتظار بر این است که در شرایط معمول، RWC گیاه نزدیک ۱۰۰ درصد و

[1] Relative water content

پتانسیل آبی متمایل به صفر باشد (Korir *et al*., 2006).

هیومیک اسید یکی از بهترین کودهای آلی است که از تجزیه میکروبی، بیولوژیکی و شیمیایی مواد آلی بدست می‌آید. هیومیک اسید سبب حاصلخیزی خاک و بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، مانند نفوذ پذیری، تهویه، دانه‌بندی، ظرفیت نگه‌داری آب در خاک، تحرک و در دسترس قرار دادن مواد غذایی می‌شود (Khan *et al*., 2012). ارزش استفاده از مجموعه‌ای از اسیدهای آمینه در این است که به دلیل غنای اسید آمینه‌ای این فرآورده‌ها، سلول نیازی به بیوسنتز مجدد این ترکیبات نداشته و انرژی مورد نیاز جهت این بیوسنتز، در گیاه ذخیره می‌شود (Raeisi *et al*., 2014). کاربرد عصاره جلبک دریایی باعث افزایش رشد گیاه، تعداد برگ، تحریک رشد ریشه، تسریع زمان گل‌دهی و افزایش تشکیل میوه، تأخیر در پیری برگ و بهبود مقاومت به تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری و درجه حرارت و افزایش کمیت و کیفیت میوه در بیش‌تر گیاهان به خصوص حبوبات می‌شود (Shokouhifar, 2016). محلول پاشی عصاره جلبک دریایی با غلظت دو در هزار لیتر آب در گیاه لوبیا سبز، وزن و تعداد دانه و مقدار پروتئین دانه را افزایش داد (Kocira *et al*., 2018). وجود پتاسیم نیز در نگهداری آب بافت‌های گیاهی اهمیت خاصی دارد. این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی، کنترل روزنه‌ای و نقل و انتقال قند از طریق آوند آبکش نقش ایفا می‌کند (Khan *et al*., 2012).

به نظر می‌رسد مصرف مواد محرک رشد می‌تواند در تعدیل اثرات تنش خشکی در گیاهان حساسی مثل لوبیا قرمز مؤثر واقع گردد؛ لذا هدف عمده از انجام این تحقیق، ارزیابی کاربرد این ترکیبات بر خصوصیات بیوشیمیایی و پروتئین دانه در شرایط آبیاری نرمال و کم آبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر محرک‌های رشد بر صفات بیوشیمیایی و پروتئین دانه لوبیا قرمز تحت سطوح مختلف آبیاری، آزمایشی در مزرعه‌ای واقع در منطقه پیرموسی شهرستان خوی با عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۴ درجه و ۵۵ دقیقه شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۱۱۵۷ متر در سال ۱۴۰۰ به اجرا درآمد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش و آمار هواشناسی منطقه طی ماه‌های اجرای آزمایش نیز در جداول ۱ و ۲ ارائه شده‌اند. این پژوهش به صورت طرح اسپلت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در ۴۵ کرت اجرا شد. عامل اصلی شامل آبیاری در سه سطح ۸، ۱۱ و ۱۴ روز یکبار و عامل فرعی در پنج سطح شامل هیومیک اسید ۹۵درصد (فولویک اسید ۱۵ درصد، هیومیک‌اسید ۳۵ درصد، جلبک دریایی ۳۰ درصد و پتاسیم ۱۵ درصد)، آمینو اسید ۲۵درصد (آمینو اسید ۲۵ درصد، اسکوربیک اسید ۱ درصد، ویتامین ب۱ ، ۱۰۰ پی پی ام، فولویک اسید ۳ درصد)، محرک ریشه‌زایی (فسفر۱۸ درصد، نیتروژن کل ۵ درصد، فولویک اسید ۲۵ درصد و ماده آلی ۲۵ درصد)، پتاسیم ۳۰ درصد (پتاسیم ۳۰ درصد و آسید آمینه ۲۵ درصد) و عدم مصرف مواد (شاهد) در نظر گرفته شد. در این آزمایش برای کشت، از بذر اصلاح شده و تجاری لوبیا قرمز رقم سان‌رای[1] تلقیح شده با باکتری‌های *Rhizobium leguminosarum* فازوئولی سویه R177 استفاده شد که از بخش آب و خاک موسسه تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی تهیه گردید. هرکرت آزمایشی دارای ۵ ردیف کاشت به طول ۴ متر و فاصله بین ردیف‌ها ۶۰ سانتی متر بوده و فاصله بوته‌ها در روی ردیف نیز ۸ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بین هر کرت با کرت بعدی دو خط خالی و بدون کشت و بین بلوک‌ها ۱/۵ فاصله برای جلوگیری از انتقال آب در زمان اعمال تیمارهای آبی در نظر گرفته شد. کاشت بذور به صورت دستی در تاریخ ۲۵ اردیبهشت‌ماه و در عمق ۵-۴ سانتی‌متر روی ردیف‌ها انجام شد. بعد از کاشت جهت سبز شدن بذور، اولین آبیاری با استفاده از لوله به صورت نشتی انجام و در ادامه آبیاری تمام کرت‌ها بر اساس سطوح عامل اصلی به ترتیب در ۸، ۱۱ و ۱۴ روز یکبار انجام گرفت. تیمارهای محلول‌پاشی شامل آمینو اسید ۲۵ درصد، محرک ریشه‌زایی و پتاسیم ۳۰ درصد بوده ولی تیمار اسید هیومیک ۹۵ درصد همراه با آب آبیاری (دو کیلوگرم در هکتار) در مرحله قبل از گل‌دهی و شروع غلاف‌بندی در دو نوبت به طور جداگانه اعمال شدند.

[1] Sun ray

محتوی پرولین بر اساس وزن تر انجام شد (Bates *et al*., 1973). برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کارتنوئیدها در این آزمایش، در ابتدا یک گرم نمونه برگی تازه در هاون چینی کوبیده و سپس در ۱۰ میلی‌لیتر حلال استون حل شد. عصاره بدست آمده را به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس به دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Bio Qust , CE250 uk منتقل و میزان جذب بدست آمده در طول موج‌های ۶۶۲ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلرفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کارتنوئید قرائت شد (Dere *et al*., 1998). برای اندازه‌گیری رطوبت نسبی برگ، برگ‌های انتهای گیاه که شامل برگ‌های جوان‌تر بود به وزن ۱۰۰ میلی‌گرم برش داده شد. بلافاصله توزین و به لوله‌های آزمایش دربدار محتوی آب مقطر وارد شدند و بعد از شش ساعت وزن آماس برگ‌ها تعیین شد سپس برگ‌ها به داخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شده و بعد از ۴۸ ساعت وزن خشک برگ‌ها بدست آمد. مقدار رطوبت نسبی برگ‌ها با استفاده از رابطه ۱ بدست آمد.

$$RWC = \frac{WF-WD}{WT-WD} \times 100 \qquad (۱)$$

WD، WF و WT به ترتیب وزن خشک، تر و آماس برگ‌ها می‌باشد. فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتری JENWAY مدل uv-6505) در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX[1]) به روش قناتی و همکاران تعیین شد (Ghanati *et al*., 2002). هم‌چنین برای اندازه‌گیری قند محلول از روش کوچرت استفاده شد (Kochert *et al*., 1978). پس از برداشت در ۱۵ شهریورماه، دانه‌های تمیز شده از هر تیمار با آسیاب خرد شدند. سپس پروتئین دلنه از طریق حاصل‌ضرب غلظت نیتروژن دانه در عدد ۶/۲۵ به عنوان ضریب تبدیل به دست آمد. غلظت نیتروژن دانه در هر تیمار با دستگاه کجلدال تعیین شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها، نرمال بودن آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 14 صورت پذیرفت، تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTSTC (Ver 2.1) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نیز در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون دانکن انجام و شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1- Physical and chemical properties of soil in the experiment site

بافت	شوری	اسیدیته	اشباع	شن	سیلت	رس	آهک	کربن آلی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
TEX	EC	pH	SP	Sand	Silt	Clay	T.N.V	OC	N	P	K
	(ds/m)		(%)						Total	(mg/kg)	
Clay silty	0.86	8.1	62	15	43	42	14.1	0.84	0.1	56.02	601.2

Sp: درصد رطوبت نسبی جرمی

SP: Percentage by mass relative humidity

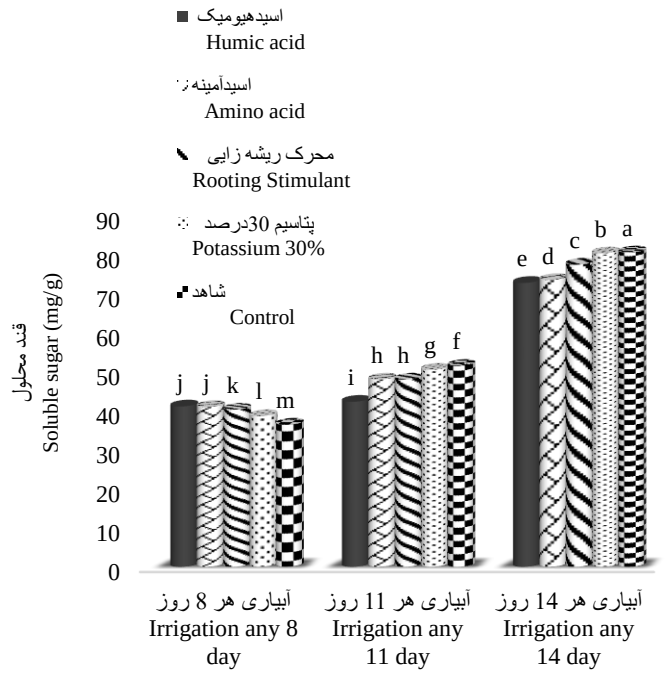
نتایج و بحث

قندهای محلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح آبیاری و محرک‌های رشد و برهمکنش آن‌ها بر قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیش‌ترین قند محلول در تنش شدید (آبیاری ۱۴ روز یک‌بار) و تیمار شاهد و کم‌ترین قندهای محلول در آبیاری نرمال (آبیاری ۸ روز یک‌بار) و تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۱). با افزایش تنش، قندهای محلول هم افزایش نشان دادند. انباشت قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی که از نظر تامین انرژی و جلوگیری از مرگ حتمی ایفا می‌کنند، می‌تواند باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و به این ترتیب در ساز و کار تحمل به خشکی نقش مهمی داشته باشند و از این نظر نتایج بدست آمده با نتایج (Jiang and Huamg, 2001) مطابقت دارد. تنش خشکی باعث افزایش میزان قندهای محلول در گیاه لوبیا قرمز نسبت به شرایط آبیاری نرمال می‌گردد (Saman *et al*., 2011). تجمع قندهای محلول نظیر ساکارز، گلوکز و فروکتوز با مقاومت به خشکی در گیاهان ارتباط

[1] Peroxidase enzyme

بسیار نزدیکی دارد. افزایش غلظت این ترکیبات در شرایط تنش، با کاهش پتانسیل اسمزی سلول امکان جذب آب و ادامه فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه را فراهم می‌کند. این افزایش در غلظت قندهای محلول می‌تواند یک پاسخ نسبت به تغییرات میزان محتوای نسبی آب و پتانسیل آب برگ‌ها ارزیابی شود، زیرا افزایش در غلظت ساکارز و سطح قندهای محلول تحت شرایط تنش خشکی به سبب بهبود وضعیت آب برگ در القای تحمل به خشکی نقش مهمی بازی می‌کند (Mohsenzadeh *et al.*, 2006). گزارش کردند که تنش کمبود آب می‌تواند باعث افزایش قندهای محلول، افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و هیدرولیز نشاسته به قندهای ساده و کند شدن انتقال قندها از برگ به سایر مراکز رشد شود، همچنین با افزایش کمبود آب بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول افزوده می‌شود (Zhang *et al.*, 2010).



شکل ۱- اثر متقابل سطوح آبیاری و محرک های رشد بر قند محلول

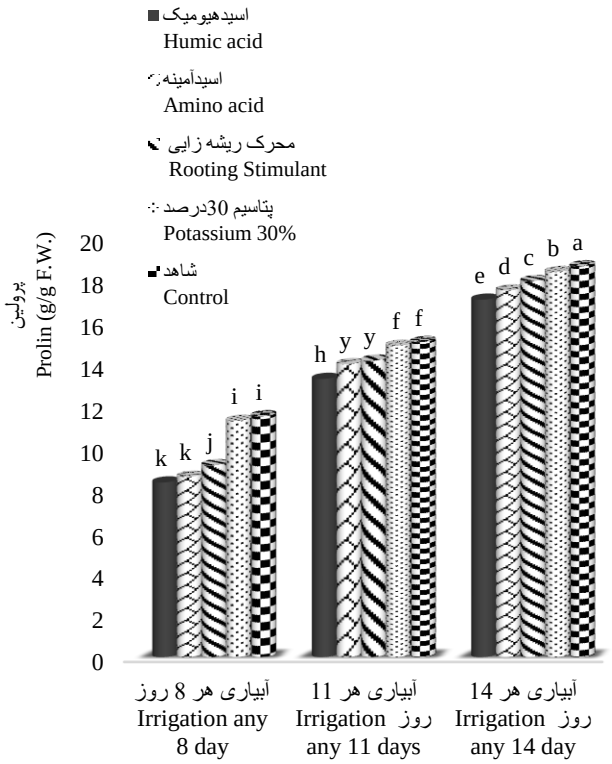
Figure 1- Interaction of irrigation levels and growth stimulants on soluble sugar

پرولین

مقدار پرولین تحت تأثیر معنی‌دار هر دو عامل آزمایشی و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۲). در این بررسی بیش‌ترین محتوای پرولین در سطوح آبیاری ۱۴ روز یک‌بار و تیمار شاهد (عدم مصرف) و کم‌ترین محتوای پرولین در سطوح آبیاری ۸ روز یک‌بار و تیمار هیومیک اسید مشاهده گردید (شکل ۲). تجمع ترکیب‌هایی مانند پرولین و اسیدهای آمینه در بافت گیاه تحت تنش می‌تواند تا حدی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه را برای گیاه فراهم آورد، اما اتکای گیاهان به این ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی هزینه بر بوده و منجر به کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Khalili *et al.*, 2010). تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی موجب محافظت غشاهای سلول، آنزیم‌های سیتوپلاسمی، پروتئین‌ها، مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Liang *et al.*, 2013). پرولین یکی از آمینو اسیدهایی است که به طور معمول در پاسخ به تنش ظاهر می‌شود (Zegaoui *et al.*, 2017). افزایش تجمع پرولین و ممانعت از تجزیه آن در برگ لوبیا، سازگاری برای تعدیل

اســـمزی تحت شـــرایط تنش خشـــکی معرفی شـــده اســـت (Siddiqui *et al*., 2015).

در کاربرد محرک‌های رشـــد، عواملی نظیر نوع گیاه، غلظت محرک‌های رشـــد، زمان و تعداد دفعات کاربرد در عکس العمل گیـاه تـأثیر می‌گـذارد (Ramroudi and Khamar, 2013). بنابراین می‌توان انتظار داشت که در سطح بالای تنش خشکی، به کارگیری هیومیک اسـید سـبب کاهش تولید پرولین، کاهش اثر تنش خشـــکی و افزایش عملکرد لوبیا شـــود. گزارش‌های متعـددی در مورد کـاربرد کودهـای آلی و هیومیـک اســـید بر محتوای پرولین وجود دارد. بـه همین ترتیـب، میزان پرولین بـا کـاربرد محرک‌هـای رشـــد از جملـه هیومیـک اســـید در طول دوره‌های خشـکی کاهش محسـوس از خود نشـان داد. هم‌چنین محققان دیگری اعلام کردند که اسـتفاده از ترکیب‌های ارگانیک مانند هیومیک اسـید یکی از روش‌هایی اسـت که ممکن اسـت از طریق آن بتوان دوره‌هـای آبیـاری را کـاهش داد و بـاعث بهبود بهره‌وری مصـرف آب و کاهش اثر تنش خشـکی در گیاهان شـد (Lotfi *et al*., 2015).



شکل ۲- اثر متقابل سطوح آبیاری و محرک های رشد بر پرولین

Figure 2- Interaction of irrigation levels and growth stimulants on proline

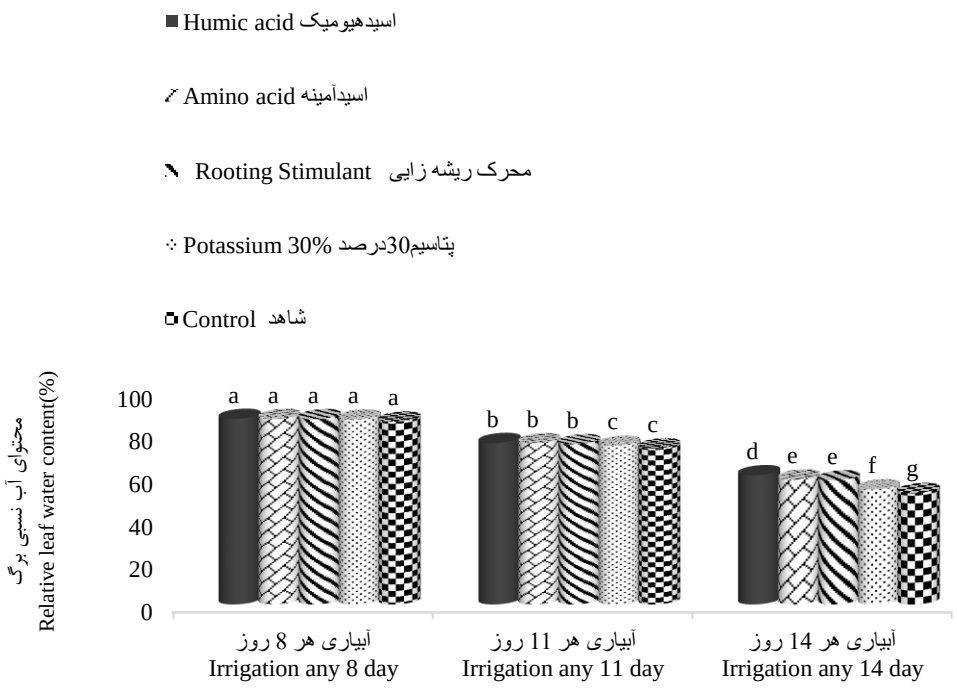
محتوای آب نسبی برگ

افزایش فاصـله آبیاری‌ها محتوای آب نسـبی برگ را کاهش داد. نتایج حاصـــل از تجزیه واریانس داده‌ها نشـــان داد که اثر سـطوح آبیاری و محرک‌های رشـد و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای آب نسـبی برگ در سـطح احتمال یک درصـد معنی‌دار شـد (جدول ۳). در این بررسی بیش‌ترین محتوای آب نسبی برگ در سـطوح آبیاری ۸ روز یک‌بار و تیمار هیومیک اسـید و کم‌ترین محتوای آب نسـبی برگ نیز در سـطوح آبیاری ۱۴ روز یک‌بار و تیمار شـاهد (عدم مصـرف) مشـاهده گردید (شـکل۳). به نظر می‌رسـد تأمین نیاز کامل آبی گیاه همراه با کاربرد هیومیک اسـید باعث افزایش محتوای آب نسـبی برگ در تیمار مذکور گردید، به عبارتی دیگر سـطوح دو فاکتور اثرات همدیگر را در این تیمار تشدید نمودند. بسیاری از محققان بر این عقیده‌اند که کاهش محتـــوای رطوبـــت نسبی برگ در اثر تنش کم آبی

مربوط به انسداد روزنه‌ها است و علت انسداد روزنه‌ها را تجمع هورمون آبسیزیک اسید می‌دانند. بین میزان محتوای رطوبت نسبی برگ و میزان رطوبت خاک رابطه مستقیم وجود دارد (Khan *et al*., 2012).

به نظر می‌رسد کاربرد هیومیک اسید در شرایط تنش توانسته دسترسی بیش‌تر رطوبت خاک را فراهم آورد و تحمل گیاه را نسبت به کمبود آب بیش‌تر نماید. به‌طوری‌که در سطح آبیاری ۱۴ روز یک‌بار هیومیک اسید بالاترین رطوبت نسبی برگ را داشت (شکل ۳). گیاهان در شرایط تنش خشکی میزان آب سلول‌های خود را از طریق افزایش مواد اسمزی در درون بافت‌ها به حداقل می‌رسانند تا آب از بافت خاک با نیروی بیش‌تری وارد آن‌ها شوند. این امر موجب کاهش میزان آب نسبی در شرایط تنش خشکی می‌گردد. بررسی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با کاربرد هیومیک اسید از اثرات تنش خشکی کاسته شد. بنابراین با افزایش میزان محتوای آب نسبی برگ‌ها، فشار درون سلولی برای رشد سلول فراهم می‌شود و امکان اتساع دیواره سلولی را فراهم می‌نماید. در پژوهشی دیگر کاربرد هیومیک اسید موجب افزایش محتوی آب نسبی برگ گردید (Mozafari *et al*., 2017).

عدم تعادل بین عرضه و تقاضای آب در گیاه محتمل‌ترین دلیل کاهش محتوای آب نسبی برگ گیاه در شرایط تنش خشکی می‌باشد. در تنش خشکی به علت تعرق بالا، گیاه آب بیش‌تری از دست می‌دهد و در نتیجه محتوای آب نسبی برگ کاهش می‌یابد که با یافته‌های (Allahmoradi *et al*., 2013)، مطابقت داشت. گونه‌های متحمل به تنش کم آبی، محتوای آب نسبی برگ‌های خود را از طریق کاهش هدر رفت آب حفظ می‌کنند اما زمانی که طی اتفاقاتی رشد گیاه به شدت کاهش می‌یابد محتوای آب نسبی برگ نیز به صورت معنی‌داری کاهش می‌یابد (Khan *et al*., 2012). مواد هیومیکی با افزایش جذب آب در گیاه، محتوای آب نسبی برگ را افزایش داده و در نتیجه با افزایش فشار تورژسانس در گیاه رشد و توسعه سلول‌های برگ را افزایش می‌دهند (Osman and Rady, 2014).



شکل ۳-اثر متقابل سطوح آبیاری و محرک های رشد بر محتوای آب نسبی برگ

Figure 3- Interaction of irrigation levels and growth stimulants on relative leaf water content

رنگدانه‌های برگ

افزایش فاصله آبیاری‌ها به طور معنی‌داری مقدار کارتنوئیدها، کلروفیل a و کلروفیل b برگ را کاهش داد. به طوری که سطوح مختلف آبیاری تأثیر معنی‌داری در سطح

یک‌درصد بر رنگ‌دانه‌های برگ داشته است. ولی محرک‌های رشد و اثر متقابل آن‌ها نتوانست این صفات را تحت تأثیر قرار دهند (جدول ۲). بیش‌ترین کارتنوئید، کلروفیل a و کلروفیل b مربوط به تنش شدید (آبیاری ۱۴ روز یک‌بار) و کم‌ترین آن نیز (آبیاری در ۸ روز یک‌بار) تعلق داشت (جدول ۳).

این نتایج با یافته‌های محققان دیگری نیز مطابقت دارد (Hosseinzadeh *et a*l., 2015 ;Armand *et al*., 2016). کارتنوئیدها از مشتقات ایزوپرنوئیدی هستند که یکی از مهم‌ترین وظایف آنها فعالیت ضد اکسیداسیونی و دفع رادیکال‌های آزاد اکسیژن حاصل از تنش خشکی در گیاه است. از مهم‌ترین مشتقات کارتنوئیدها می‌توان به کاروتن‌ها اشاره نمود که یک بخش کلیدی سیستم ضد اکسیداسیونی گیاه را تشکیل می‌دهند (Ghorbanli *et al*., 2013). به همین دلیل احتمال داده می‌شود که گیاهان قرار گرفته در شرایط تنش آبی به منظور کاهش صدمات ناشی از افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بافت‌ها میزان کارتنوئید را دربافت‌های فتوسنتری خود بالا می‌برند (Koc *et al*., 2010). گزارش‌های متعددی در مورد افزایش یا کاهش کارتنوئیدها در طی تنش خشکی وجود دارد. میزان کارتنوئیدها در تنش خشکی شدید به عنوان یک حامی کلروفیل می‌تواند افزوده شود تا مانع تخریب کلروفیل گردد (Abdalla and El-Khoshiban, 2007). محتوای کارتنوئید تحت تنش خشکی در لوبیا کاهش می‌یابد (Silva, 2007). در حالی که محققان دیگری افزایش میزان کارتنوئید را تحت تنش خشکی در لوبیا گزارش کردند (Emadi *et al*., 2012). می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر تنش خشکی بر میزان کارتنوئیدها در ارقام و گونه‌های گیاهان مختلف یکسان نیست و پاسخ‌های متفاوتی دیده می‌شود.

دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش خشکی از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک مناسب جهت مقاومت به تنش خشکی هستند (Tatrai *et al*., 2016). در بررسی اثرات تنش کم آبی بر گیاه نخود گزارش شد که با کاهش میزان آب قابل دسترس، محتوای کلروفیل a در بافت سبز برگ کاهش یافت (Rahbarian *et al*., 2011). در زمان تنش خشکی روزنه برگ‌ها به طور کامل یا جزئی بسته می‌شود و این فرآیند طبیعی فتوسنتز را مختل می‌کند (Nasrollahzadeh Asl *et al*., 2016). سایر محققان با بررسی اثر تنش دور بالای آبیاری اظهار داشتند که تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار کلروفیل a می‌شود که با این نتایج مطابقت دارد (Moharramnezhad *et al*., 2016). در شرایط تنش خشکی اکسیداسیون نوری رنگ دانه‌ها منجر به تخریب کلروفیل a می‌شود و میزان کلرفیل a کاهش می‌یابد (Giancarla *et al*., 2013). نتایج حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل a برگ‌ها، روند کاهش تدریجی را همراه با افزایش تنش خشکی نشان داد. کاهش این رنگریزه مهم فتوسنتزی می‌تواند به علت اختلال در جذب عناصر غذایی ضروری در سنتز رنگریزه‌های فتوسنتزی باشد. تنش موجب افزایش تولید اکسیژن واکنش‌گر می‌شود و کاهش میزان کلروفیل به خصوص a، نشان دهنده وسعت آسیب‌های اکسیداتیو است. هم‌چنین کاهش غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش ممکن است در ارتباط با افزایش فعالیت تجزیه کلروفیل توسط آنزیم کلروفیلاز باشد (Goldani, 2012). مقایسه تغییرات مقادیر کلروفیل a و b در تحقیقی نشان داد که در اثر تنش خشکی، میزان کاهش کلروفیل a بیشتر از میزان کاهش کلروفیل b است. با کاهش میزان کلروفیل تغییرات زیادی در مقدار تولید در گیاهان به وجود می‌آید (Sadeghipur and Aghaei, 2012).

بیش‌ترین مقدار کلروفیل b مربوط به سطح آبیاری ۸ روز یک‌بار به میزان ۲۳/۶ میلی‌گرم و کم‌ترین مقدار کلروفیل b نیز در تنش شدید (آبیاری در ۱۴ روز یک‌بار) به میزان ۲۲/۴۴ میلی‌گرم مشاهده شد (جدول ۳). نتایج فوق با یافته‌های برخی محققین مطابقت داشت (Armand *et al*., 2016; Hosseinzadeh *et al*., 2015). یکی از روش های ارزیابی و پیش‌بینی تحمل گیاهان زراعی به تنش خشکی، مطالعه میزان تغییراتی است که در سنتز کلروفیل(a+b) برگ در اثر کمبود آب اتفاق می‌افتد. کاهش سنتز کلروفیل b از واکنش‌های عمومی گیاهان نسبت به کمبود آب می‌باشد (Gardner, 2010). تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل b می‌شود به‌طوری‌که این میزان کاهش نسبت به شاهد ۴۰ درصد گزارش شده است (Moharramnejad *et al*., 2016). عده‌ای نیز کاهش میزان کلروفیل b در شرایط تنش خشکی را به افزایش رادیکال‌های آزاد نسبت می‌دهند که باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌شود (Flexas and Medrana, 2008). تنش آبی سبب کاهش معنی‌دار

کلروفیل b در گیاه سویا گردید. کاهش کلروفیل b در شرایط تنش خشکی به علت تجزیه کلروپلاست و ناپدید شدن ساختارهای تیلاکوئید است (Ghorbanli *et al*., 2013). به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل b طی تنش کم آبی به علت اکسیداسیون نوری باشد شبیه تخریب کلروفیل a، لذا میزان کاهش کلروفیل a و b در طی تنش خشکی از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک مناسب جهت ارزیابی مقاومت به تنش خشکی می‌باشد.

درصد پروتئین دانه

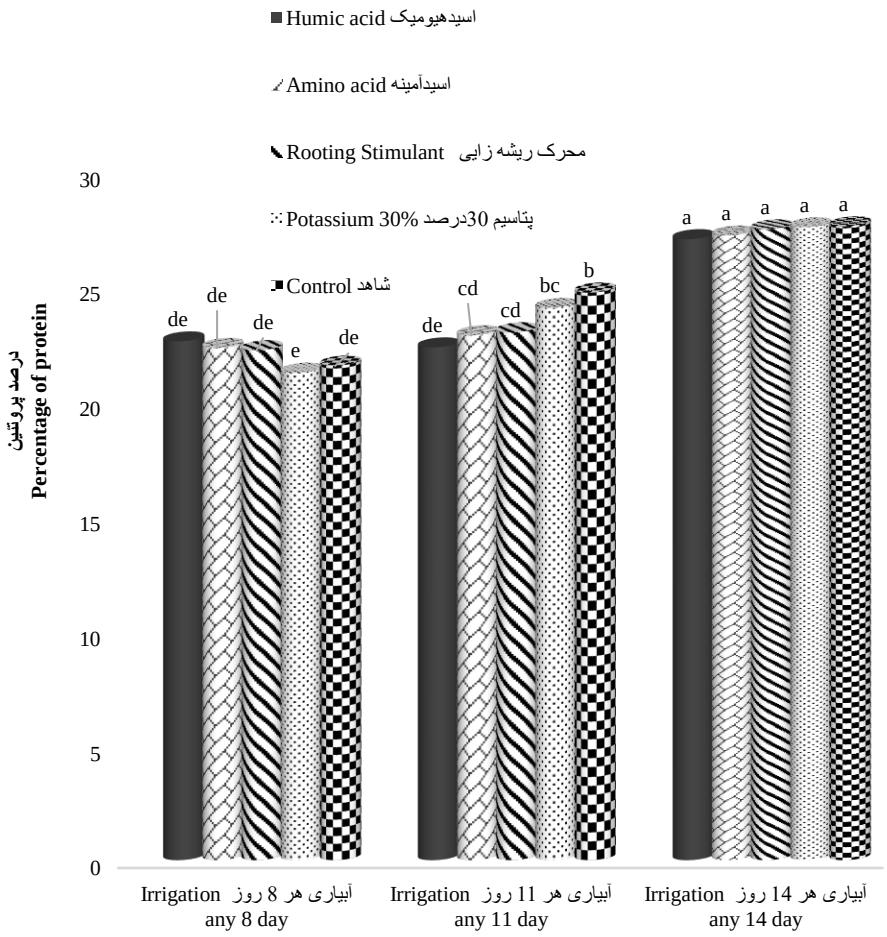
میزان قابل توجهی از ذخیره بذر در دانه لوبیا را پروتئین تشکیل می‌دهد. تولید پروتئین گیاهی از اهداف کشت لوبیا می‌باشد. در این بررسی بیش‌ترین درصد پروتئین دانه در سطوح آبیاری ۱۴ روز یک‌بار و تمام تیمارهای محرک‌های رشد و کم‌ترین درصد پروتئین دانه در سطوح آبیاری ۸ روز یک‌بار و پتاسیم مشاهده گردید (شکل ۴). با تشدید تنش کم آبی میزان پروتئین افزایش یافت که افزایش درصد پروتئین با اعمال تنش کم آبی می‌تواند به دلیل تأثیر کمبود آب بر کاهش طول دوره پر شدن دانه باشد. در زمان وقوع تنش، جهت انجام تنظیم اسمزی در گیاه پروتئین‌های مخصوص تنش نیز تولید می‌شوند به‌طوری‌که غلظت این پروتئین‌ها در تمامی اجزاء گیاه افزایش می‌یابد. این پروتئین‌ها جزء پروتئین‌های ساختمانی نبوده ولی درصد پروتئین را بالا می‌برند (Liu *et al*., 2005). تنش خشکی موجب کوتاه شدن دوره زایشی و کاهش زمان ذخیره نشاسته در دانه می‌شود که در نهایت منجر به افزایش درصد پروتئین می‌گردد و در مرحله پایانی رشد به حداکثر مقدار می‌رسد (Mertz Henning *et al*., 2017). این افزایش در جهت کمک به تنظیم اسمزی سلول در شرایط تنش کم آبی ایجاد می‌شود. در شرایط تنش خشکی به خصوص در مرحله پر شدن غلاف، به واسطه کاهش طول دوره پرشدن دانه و کاهش فتوسنتز خالص، تغییراتی در تجمع نشاسته در دانه رخ می‌دهد. میزان تأثیرپذیری متابولیسم نیتروژن و تجمع کربوهیدرات‌ها در دانه، اثر تعیین کننده‌ای بر درصد پروتئین دانه به جای می‌گذارند (Navvabpour *et al*., 2017). در مطالعه‌ای گزارش شد که در بین سطوح آبیاری بیش‌ترین درصد پروتئین دانه لوبیا مربوط به تنش شدید آبی بود و کم‌ترین درصد پروتئین دانه در تیمار آبیاری کامل مشاهده شد (Mohajerani *et al*., 2015). در شرایط تنش خشکی، جذب و تثبیت دی اکسید کربن بر اثر بسته شدن نسبی روزنه‌ها کاهش می‌یابد در حالی که انتقال مجدد نیتروژن از برگ‌ها به دانه کاهش نمی‌یابد و این امر سبب افزایش درصد پروتئین می‌شود. در این رابطه نتایج تحقیقاتی نشان داد که بالا بودن درصد پروتئین در شرایط دور بالای آبیاری می‌تواند مرتبط با کاهش طول دوره رشد و نمو در تیمارهای تنش دیده باشد که موجب کاهش نسبت کربوهیدرات به پروتئین و در نتیجه افزایش درصد پروتئین در این تیمارها می‌گردد (Jalilian *et al*., 2005).

عملکرد دانه

نتایج حاصل از جدول ۲ نشان داد که بین سطوح آبیاری و کاربرد محرک‌های رشد و اثر متقابل آنها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. بیش‌ترین عملکرد دانه در سطح آبیاری نرمال به میزان ۳۰۷۶/۱۲ کیلوگرم در هکتار با کاربرد هیومیک اسید و کمترین مقدار این صفت نیز در تنش خشکی و عدم کاربرد محرک‌های رشد (شاهد) به میزان ۱۲۲۰/۹۶ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (شکل ۵). با وقوع تنش از عملکرد دانه کاسته شد، به طوری که گیاهان در سطوح مختلف تنش عملکرد کم‌تری نسبت به آبیاری مطلوب داشتند. با بررسی کاربرد هیومیک اسید پژوهشگران عنوان کردند که هیومیک اسید نفوذپذیری غشای سلولی را افزایش داده و بدین طریق ورود پتاسیم را تسهیل می‌کند که نتیجه آن افزایش فشار داخل سلولی منجر به افزایش تولید کلروفیل و میزان فتوسنتز خواهد شد (Giasuddin *et al*., 2007).

تنش خشکی از طریق کاهش سطح برگ‌ها و اختلال در روند جذب و انتقال عناصر غذایی، عرضه مواد پرورده را کاهش داده و موجب تغییر و کاهش در اجزای عملکرد دانه می‌گردد. همچنین، کاهش تولید مواد فتوسنتزی و کاهش لقاح گل‌ها در شرایط تنش خشکی، کاهش تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن دانه‌ها را در پی خواهد داشت و به دنبال کاهش این اجزاء، عملکرد دانه نیز کاهش خواهد یافت (Mohammadi *et al*., 2018 ; Sadat Rasti Sani *et al*., 2014). در این ارتباط محققان با بررسی شاخص‌های تحمل به خشکی در لوبیا چیتی نشان دادند که بیش‌ترین تأثیر خشکی بر تعداد دانه در

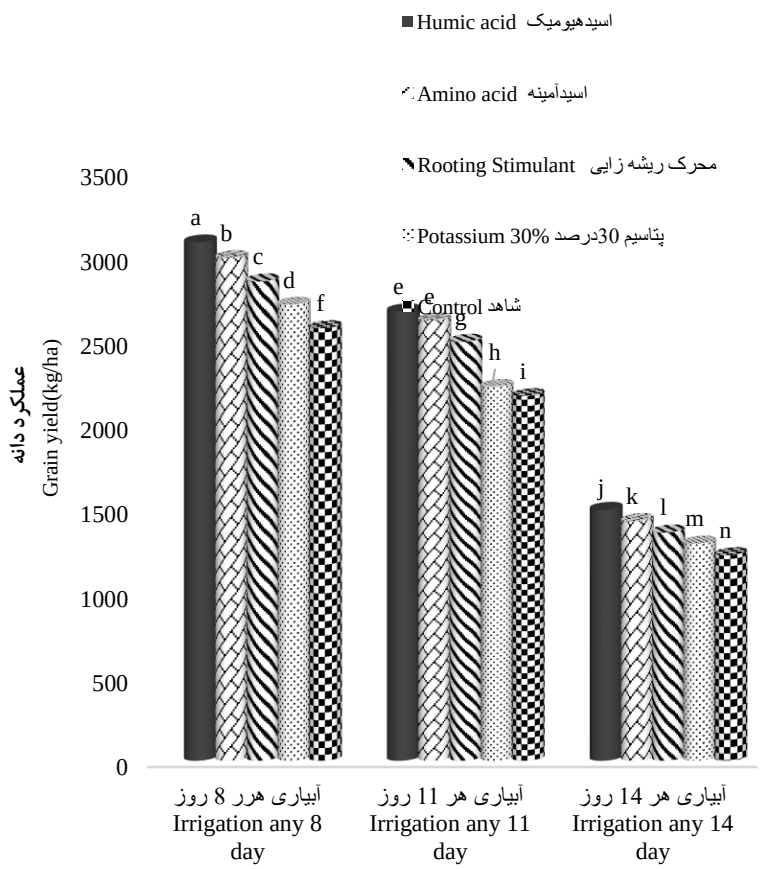
بوته و عملکرد دانه بود (Asadi *et al*., 2013). محققان دیگری نیز کاهش وزن دانه لوبیا در اثر خشکی را به علت کاهش تقسیمات سلولی در درون بذر و در نتیجه جذب آسیمیلات کم‌تر و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های سنتز نشاسته و ساکارز دانستند (Sadeghi Pour *et al*., 2012). بر اثر تنش خشکی عملکرد دانه لوبیا کاهش یافت، گزارش دادند کمبود آب در مرحله گل‌دهی باعث افزایش سقط جنین در دانه گرده می‌شود که در نهایت ریزش گل‌ها و غلاف‌ها عملکرد دانه را کاهش می‌دهد (Zadeh Bagheri *et al*., 2012).



شکل ۴- اثر متقابل سطوح آبیاری و محرک های رشد بر درصد پروتئین

Figure 4- Interaction of irrigation levels and growth stimulants on protein content

کاربرد هیومیک اسید سبب افزایش میزان کربوهیدرات در ساقه و برگ گیاهان می‌شود. این کربوهیدرات‌ها از طریق ساقه به ریشه و از ریشه به خاک انتقال داده می‌شوند و از طریق فراهمی مواد غذایی برای میکرو ارگانیسم‌های خاک و گیاه، سبب افزایش عملکرد می‌گردد (Sassi Aydi *et al*., 2014). طی تحقیقی دیگر مشاهده گردید که هیومیک اسید از طریق افزایش رشد گیاه به خصوص ریشه‌ها، میزان فتوسنتز، جذب عناصر غذایی، اندازه سطح برگ، بیوماس گیاهی و نفوذپذیری بافت‌ها را افزایش داده است و در نهایت موجب افزایش عملکرد دانه می‌گردد (Rafiiel Hossaini *et al*., 2016). آسکوربیک اسید نیز از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تقسیم و بزرگ شدن سلول بر افزایش عملکرد اثر مثبتی دارد (Zhang, 2010). کاربرد عصاره جلبک دریایی در گیاه سویا در مقایسه با گیاهان شاهد، عملکرد دانه را بهبود بخشید (Abu Seif *et al*., 2016). سالیسیلیک اسید نقش مثبت در فعالیت‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های مربوط به فتوسنتز دارد. از طرفی باعث انتقال بهتر مواد پرورده از منبع به مخزن می‌شود، در نتیجه موجب رشد بهتر و عملکرد بیش‌تر گیاهان می‌شود (Modarres Sanavy *et al*., 2014).



شکل ۵- اثر متقابل سطوح آبیاری و محرک های رشد بر عملکرد دانه

Figure 5- Interaction of irrigation levels and growth stimuli on grain yield

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات آزمایشی لوبیا قرمز تحت سطوح مختلف آبیاری و کاربرد محرک های رشد

Table 2- Analysis of variance of experimental traits of red bean under different levels of irrigation and application of growth stimulants

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS				
		قندهای محلول	پرولین	محتوای آب نسبی برگ	کارتنوئید	کلرفیل a
S.O.V	df	Soluble sugars	Proline	Relative leaf water content	Carotenoid	Chlorophyll a
تکرار Replication	2	0.007	0.002	0.815	4.407	2.242
سطوح آبیاری Irrigation(A)	2	5740.642**	247.403**	3402.941**	31.001**	32.076**
اشتباه Error	4	0.003	0.002	0.414	3.574	2.647
محرک های رشد Growth stimuli(B)	4	28.711**	7.893**	20.659**	10.216ns	3.769ns
آبیاری* محرک های رشد A*B	8	30.541**	0.8**	8.989**	7.140ns	3.541ns
اشتباه Error	24	0.003	0.003	0.199	3.369	1.543
ضریب تغییرات cv٪		10	4	6.2	13.3	3.79

ادامه جدول ۲

Table 2- continued

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS			
		کلرفیل b	پراکسیداز	درصد پروتئین	عملکرد دانه
S.O.V	df	Chlorophyll b	Peroxidase	Percentage of protein	Grain yield
تکرار Replication	2	0.165	0.217	1.874	49.96
سطوح آبیاری Irrigation(A)	2	1.679**	1.099^{ns}	117.548**	877432.09**
اشتباه Error	4	0.227	0.275	1.245	53.521
محرک های رشد Growth stimuli(B)	4	0.562^{ns}	0.517^{ns}	0.503**	286816.79**
آبیاری* محرک های رشد A*B	8	1.059^{ns}	1.006^{ns}	1.736*	14505.42**
اشتباه Error	24	0.487	0.481	0.683	49.541
ضریب تغییرات cv٪		3.06	1.7	3.4	3.2

*و ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد وغیر معنی دار بودن اختلاف

ns,* and ** indicate non-significant and significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات آزمایشی لوبیا قرمز تحت سطوح مختلف آبیاری و کاربرد محرک های رشد

Table 3- Comparison of mean experimental traits of red beans under different levels of irrigation and application of growth stimulants

تیمارهای آزمایشی	سطوح آبیاری levels of Irrigation			محرک های رشد Stimuli of growth				
Treatment	۸روز	۱۱روز	۱۴روز	هیومیک اسید	آمینو اسید	محرک ریشه زایی	پتاسیم ۳۰٪	شاهد
	8 days	11 days	14 days	Humic acid	Amino acid	Rooting stimulant	Potassium 30%	Control
کارتنوئید Carotenoid (mg/g)	12.2 ^{c}	14.50 ^{b}	14.85 ^{a}	14.91	15.09	13.31	12.81	13.14
کلروفیل a Chlorophyll a(mg/g)	33.74 ^{a}	33.41 ^{b}	31.07 ^{c}	33.72	33.03	32.28	32.09	32.63
کلروفیل b Chlorophyll b(mg/g)	23.11 ^{a}	22.83 ^{b}	22.44 ^{c}	22.91	23.13	22.65	22.47	22.81

میانگین‌ها دارای حروف مشابه در هر ردیف فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن هستند.

The means with similar letters in each Row have no significant difference in the 5% probability level with Duncan test.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که لوبیا قرمز مانند اکثر گیاهان واکنش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متعددی به تنش خشکی نشان می‌دهد. تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل a و b و محتوای نسبی آب برگ شد ولی در مقابل باعث افزایش کارتنوئیدها، پرولین، قندهای محلول و پروتئین گردید. فاصله

بالای آبیاری، درصد پروتئین دانه را افزایش داد. با وجود بالا بودن پروتئین دانه در تیمار دور بالای آبیاری، عملکرد پروتئین در این تیمار به دلیل پایین بودن عملکرد دانه کمتر از دو تیمار دیگر بود. کاربرد هیومیک اسید در شرایط تنش خشکی به کاهش غلظت پرولین و افزایش غلظت هیدرات کربن محلول در برگ منجر شد. این امر نشان می‌دهد که هیومیک اسید می‌تواند به عنوان کود آلی در تنظیم اسمزی تحت شرایط تنش خشکی مؤثر باشد. اسیدهای هیومیک و فولیک می‌توانند با عناصر غذایی خاک تعامل نمایند و باعث ایجاد واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیو شیمیایی در گیاهان گردند که منجر به افزایش رشد و باعث کاهش اثرات منفی تنش کم آبی گردند. رویکرد استفاده از کودهایی با منشا طبیعی همانند هیومیک اسید علاوه بر افزایش عملکرد می‌تواند در جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی همچنین آلودگی محیط زیست نقش مثبتی ایفا کند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان مقاله وجود ندارد.

References

Abdalla, M., and El- Khoshiban, N.H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research, 3*(12), pp.2062-2074.

Abu Seif , Y., El-Miniawy, S., Abu El-Azm, N., and Hegazi, A. 2016. Response of snap bean growth and seed yield to seed size, plant density and foliar application with algae extract. *Annals of Agricultural Sciences, 61*(2), pp.187-199. **doi: 10.1016/j.aoas.2016.09.001**

Allahmoradi, P., Mansourifar, C., Saidi, M., and Jalali Honarmand, S. 2013. Waterdeficiency and its effects on grain yield and some physiological traits during different growth stages in lentil (*Lens culinaris* L.) cultivars. *Annals of Biological Research, 4*(5), pp.139-145. [In Persian].

Armand, N., Amiri, H., and Ismaili, A. 2016. Interaction of methanol spray and water-deficit stress on photosynthesis and biochemical characteristics of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Sadry. *Photochemistry and Photobiology, 92*, pp.102-110. [In Persian]. **doi: 10.1111/php.12548**

Asadi, B., Ghadiri, A., and Asteraki, H. 2013. Evaluation of drought stress tolerance indices in Chitti bean genotypes. *The 5th Iranian Pulse Crops Symposium,* Karaj, pp. 334-337. [In Persian].

Bates, I., Waldern, R., and Teare, I. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant and Soil, 39*, pp.205-207.

Dere, S., Gunes, T., and Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll- a, b and total carotenoid cintents of some algae species using different solvents. *Journal of Botany, 22*, pp.13-17. **doi: 10.1016/s0039-9140(97)00325-1**

Du Jardin, P. 2015. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae, 196*, pp.3-14. **doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.021**

Emadi, N., Baluchi, H., and Worldview, S. 2012. Effect of drought stress on grain yield and some physiological characteristics of diffrent red bean genotypes. *Plant Ecophysiology, 18*, pp.1-11. [In Persian].

Flexas, J., and Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3- plants: stomatal and nonstomatal limitation revisited. *Annals of Botany, 183*, pp.183-189. **doi: 10.1093/aob/mcf027**

Gardner, F. 2010. Physiology of crop plants. *Scientific Publishers (India), Crops*, 327 pp.

Ghanati, F., Morita, A., and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. *Soil Science and Plant Nutrition, 48*, pp.357-364. **doi: 10.1080/00380768.2002.10409212**

Ghorbanali, M., Gafarabad, M., Amirkian, T., and Allahverdi, B. 2013. Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydroascorbate changes under drought stress in akria and mobil tomato cultivars. *Journal of Plant Physiology, 3*, pp.651-658. [In Persian].

Giancarla, V., Madosa, E., Ciulca, S., Coradini, R., Iuliana, C., Mihaela, M., et al. 2013. Influence of water stress on the chlorophyll content in barley. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology, 17*, pp.223-228.

Giasuddin, A., Kanel, S., and Choi, H. 2007. Adsorption of humic acid onto nanoscale zerovalent iron and its effect on arsenic removal. *Journal of Environment Science Technology, 41*(6), pp.2022-2027. **doi: 10.1021/es0616534**

Goldani, M. 2012. Effect of irrigation intervals on some growth indices ecotypes basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Agricultural Research*, *10*, pp.412-420. [In Persian].

Hosseinzadeh, S., Amiri, H., and Ismaili, A. (2015). Effect of vermincompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica, 54*(1), pp.87-92. [In Persian]. **doi: 10.1007/s11099-015-0162-x**

Jaleel, C.A, Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, J., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2009. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture and Biology, 11*, pp.100-105.

Jalilian, J., Modarres Sanavy, S., and Sabbaghpour, S. 2005. The effect of density and supplemental irrigation on yield, yield components and protein content of four chickpea (*Cicer aritinum*) cultivars under dry land condition. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 12*(5), 1-9. [In Persian].

Jiang, Y., and Huang, B. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought pre-conditioningenhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Journal of Crop Science, 41*, pp.1168-1173. **doi: 10.2135/cropsci2001.4141168x**

Khalil, S., Nahed, G., Aziz, A., and Abou Leil, B. 2010. Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of (*Ocimum basilicum*). *Journal of American Science, 6*, pp.33-44.

Khan, A., Guramni, A., Khan, M., Hussain, F., Akhtar, M., and Khan, S. 2012. Effect of humic acid on growth, yield, nutrient composition, photosynthetic pigment and total sugar contents of peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Chemical Society of Pakistan, 6*, pp.56-63.

Koc, E., Islek, C., and Ustun, A. 2010. Effect of coldon protein, proline, phenolic compounds andchlorophyll content of two *pepper* (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science, 23*, pp.1-6.

Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In helebust J.A. *Craig J. (ed): Hand book of physiological method*, pp.96-97. Carbring unir. Press, Cambridge. (Handbook). **doi: 10.1007/978-3-642-67356-6_52**

Kocira, S., Kocira, A., Kornas, R., Koszel, M., Szmigielski, M., Krajewska, M., et al. 2018. Effects of seaweed extract on yield and protein content of two *common bean* (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Legume Research , 41* (4), pp.589-593. **doi: 10.18805/lr-383**

Korir, P., Nyabundi, J., and Kimurto, P. 2006. Genotypic responses of common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) to moisture stress conditions in Kenya. *Asian Journal of Plant Science, 5*, pp.24-32. **doi: 10.3923/ajps.2006.24.32**

Kumar, S., Verma, A., Das, M., Jain, S., and Dwivedi, P. 2013. Clinical complications of kidney bean (*Phseolus vulgaris* L.) consumption. Nutrition. *29*, pp.821-827. **doi: 10.1016/j.nut.2012.11.010**

Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S., and Becker, D. 2013. Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxid Redox Signal, 19*(9), pp.998-1011. **doi: 10.1089/ars.2012.5074**

Liu, F., Andersen, M., Jacobsen, S., and Jensen, C. 2005. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L.) during progressive soil drying. *Environmental Journal of Experimental Botany, 54*, pp.33-40. **doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.05.002**

Lotfi, R., Gharavi Kouchebagh, P., and Khoshvaghti, H. 2015. Biochemical and physiological responses of Brassica napus plants to humic acid under water stress. *Russ. J. Plant Physiol., 64*(2), pp.480-486. [In Persian]. **doi: 10.1134/s1021443715040123**

Mertz-Henning, L., Ferreira, L., Henning, F., Mandarino, J., Santos, E., Oliveira, M., et al. 2017. Effect of water deficitinduced at vegetative and reproductive stages on protein and oil content in soybean grains. *Agronomy, 8*, pp.1-11. **doi: 10.3390/agronomy8010003**

Modarres-Sanavy, S., and Keshavarz, H. 2014. Effect of salicylic acid on chlorophyll, some growth characteristics and yield of two *canola cultivars*. *Journal of Crop Production, 7*, pp.161-171. [In Persian].

Mohajerani, S., Alavifazel, M., Madani, H., Lak, S., and Madhaj, A. 2015. Effects of water shortage at different growth stages on physiological and biochemical traits in red bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 10*(40), pp.41-50. [In Persian].

Mohammadi, M., Tavakoli, A., Tavakoli, A., Pouryousef, M., and Mohseni Fard, E. 2018. The Effect of Epibrassinolide on Growth and Seed Yield of Bean under optimal irrigation and drought stress conditions. *Journal of Agricultural Crops Production, 20*, pp.595-608. [In Persian].

Moharramnejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asgari, A., and Shiri, M. 2016. Response of antioxidant defense system to osmotic stress in maize seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin, 25*, pp.805-811. [In Persian].

Mohsenzade, S., Malboobi, M., Razavi, K., and Farrahi Aschtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of (*Aeluropus lagopoides*) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany, 56*, pp.322-374. [In Persian]. **doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.03.008**

Mozafari, S., Khorasani Nejad, N., and Ghorgin Shabankareh, H. 2017. The effect of irrigation regimes and the application of humic acid on some of the physiological and biochemical characteristics of purpura herb in greenhouse conditions. *Journal of Crop Improvement, 19*(2), pp.401-416. [In Persian].

Nasrollah Zadeh Asl, P., Shirkhani, A., Zehtab Salmasi, S., and Chokan, R. 2016. Effect of chemical and biological fertilizers on grain yield and corn leaf characteristics in different irrigation conditions. *Journal of Agricultural Practice Research, 29*(4), pp.75-86. [In Persian].

Navvabpour, S., Hezar Jaribi, A., and Mazandarani, A. 2017. Investigating the effect of drought stress on important agronomic traits and protein and seed oil content in Glycin max L. genotypes. *Environmental Stress in Crop Sciences Journal, 4*(10), pp.491-503. [In Persian].

Osman, A., and Rady, M. 2014. Effect of humic acid as an additive to growing media to enhance the production of eggplant and tomato transplants. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 89*(3), pp.237-244. [In Persian]. **doi: 10.1080/14620316.2014.11513074**

Puthur, J. 2016. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. *South Indian Journal of Biological Sciences, 2*(1), pp.9-13. **doi: 10.22205/sijbs/2016/v2/i1/100335**

Raeisi, M., Farahani, L., and Palashi, M. 2014. Changes of qualitative and quantitative properties of radish (*Raphanus sativus* L.) under foliar spraying through amino acid. *International Journal of Biological Macromolecules, 4*(1), pp.463-469. [In Persian]. **doi: 10.12692/ijb/4.1.463-468**

Rafiiolhossaini, M., Salehi , F., and Mazhari, M. 2016. The Effect of Drought Stress Intensity and Stage on Agronomic Characteristics of Two *Common Bean* Cultivars. *Desert Ecosystem Engineering Journal, 5*(11), pp.45-56. [In Persian].

Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A., and Najafi, F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica, 53*(1). [In Persian]. **doi: 10.2478/v10182-011-0007-2**

Ramroudi, M., and Khomr, A. 2013. Interaction effects of salicylic acid spraying and different irrigation levels on some quantity and quality traits, and osmoregulators in basil (*Ocimum basilicum*). *Applied Research of Plant Ecophysiology, 1*(1), pp.19-31.

Sadat Rasti Sani, M., Lahouti, M., and Ganjeali, A. 2014. Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Pulses Research, 5*, pp.103-116. [In Persian].

Sadeghipour, O., and Aghaei, P. 2012. Response of common bean to exogenous application of salicylic acid under water stress condition. *Advances in Environmental Biology, 6*(3), pp.1160-1168. [In Persian].

Saman, M., Sepehri, A., and Ahmadvand, G. 2011. Dry matter accumulation and compatile metabolites prouduction of six chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under different soil moisture. *Iranian Journal of Biology, 24*(3), pp.373-389. [In Persian].

Sassi-Aydi, S., Aydi, S., and Abdelly, C. 2014. Inorganic nitrogen nutrition enhances osmotic stress tolerance in Phaseolus vulgaris: lessons from a drought-sensitive cultivar. *Horticultural Science, 49*(5), pp.550-555. **doi: 10.21273/hortsci.49.5.550**

Shokouhi Far, y. 2016. Application of algae in agriculture. *Second International Conference on Sustainable Development, Solutions and Challenges Focusing on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism, Iran (Tabriz), 2325*, Feb, pp.3-4. **doi: 10.1201/9781003165941-17**

Siddiqui, M., Khaishany, M., Qutami, M., Whaibi, M., Grover, A., Ali, M., et al. 2015. Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences, 16*, pp.10214-10227. **doi: 10.3390/ijms160510214**

Silva, M., Jifon, J., Silva, J., and Sharma, V. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology, 19*, pp.193-201. **doi: 10.1590/s1677-04202007000300003**

Sorkhi, F. 2015. Effect of irrigation and nitrogen fertilizer levels on physiological characteristics of four varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, *9*(3), pp.401-416. [In Persian].

Tatrai, Z., Sanoubar, R., Pluhar, Z., Mancarella, S., Orsini, F., and Gianquinto, G. 2016. Morphological and physiological plant responses to drought stress in Thymus citriodorus. *International Journal of Agronomy, 10*, pp.1-8. **doi: 10.1155/2016/4165750**

Zadehbagheri, M., Kamelmanesh, M., Javanmardi, S., and Sharafzadeh, S. 2012. Effect of drought stress on yield and yield components, relative leaf water content, proline and potassium ion accumulation in different white bean genotype. *African Journal of Agriculture Research*, *7*, pp.5661-5670. [In Persian]. **doi: 10.5897/ajar10.901**

Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, S., Djebbar, R., Belbachir, O., and Carol, P. 2017. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of Plant Physiology, 218*, pp.26-34. **doi: 10.1016/j.jplph.2017.07.009**

Zhang, K., Yu, H., Shi, K., Zhou, Y., Yu, J., and Xia, X. 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in Begonia semperflorens. *Plant Science, 179*(3), pp.202-208. **doi: 10.1016/j.plantsci.2010.05.006**

Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 6, Issue 2, Summer 2024, P. 541-558

Evaluation of the biochemical characteristics of red beans (*Phaseolus Vulgaris* L.) and seed protein under different levels of irrigation and growth stimulating compounds

Mohammad Kazem Alillou[1*], Mohsen Roshdi[2], Sasan Rezadust[2], Javad Khalili Mahaleh[2]

[1] PhD Student, Department of Agriculture, Khoy Branch, Islamic Azad University, Khoy, Iran
[2] Department of Agronomy and Plant Breeding, Khoy Branch, Islamic Azad University, Khoy, Iran
[*]Corresponding Author: kazemalilou1@gmail.com

Received: 27 May 2022 Accepted: 7 October 2022 **DOI: 10.22034/CSRAR.2024.351363.1260**

Abstract

Introduction: In recent years, dehydration has led to different reactions in drought-sensitive plants, including red beans. The decreased level of available water resulted in adverse effects on the yield and biochemical characteristics of red beans. The results of variance analysis indicated that irrigation levels and growth stimulants had significant effects on soluble sugar, leaf relative water content, protein percentage, and seed yield. Increased time intervals between irrigations increased the proline content, while decreasing carotenoids and chlorophyll in the whole leaves. Application of humic acid significantly affected the yield and protein percentage in the seeds. As the time interval between irrigations increased, the biochemical and agronomic traits affecting the growth and development of red beans were disturbed, leading to a decrease in the seed yield.

Materials and Methods: An experiment was conducted in a farm in Pir Musa, Khoy (38°34′26″N 44°53′24″E) at 1157 m above sea level in 2021 to evaluate the effect of growth promoters on biochemical traits and proteins of kidney beams under different irrigation levels. Chemical and physical properties of the farm soil and the climate information of the area during the experiment are listed in Tables 1 and 2, respectively. The experiment was conducted using a SPLAT plot plan in the form of purely random blocks with 3 iteration in 45 terraces. The primary agent was irrigation at three levels of each 8, 14, and 14 days and the secondary agent was five different cases of humic acid 95% (15% fulvic acid, 35% humic acid, 30% seaweed, and 15% potassium), amino acid 25% (25% amino acid, 1% ascorbic acid, 100 ppm vitamin B1, and 25% fulvicol acid), rooting stimulator (18% phosphor, 5% nitrogen, 25% fulvicol acid and 25% organic matter), potassium 30% (30% potassium and 25% amino acid), and no additional material (control). Genetically-modified commercial sun ray cultivar inoculated with Phaseoli strain R117 rhizobium leguminosarum bacteria was used provided by the Soil and Water department of Agricultural Research Center of West Azerbaijan Province. Each experimental terrace was composed of five 4 m-long rows with 60 cm spacing. The space between adjacent plants on each row was 8 cm. There was two unplanted rows between adjacent terraces, and a 1.5 m space was considered between blocks to prevent water penetration during irritations. The seeds were planted by hand on May 15, 2021 at the depth of 4-5 cm. The first irritation was after planting the seeds using a leak pipe and then, all terraces were irrigated each 8, 11, and 14 days. The foliar spraying treatment included amino acid 25%, rooting stimulator, and potassium 30%, but the humic acid 95% treatment was carried out twice with irritation (2 kg per hectare) before flowering and capsule initiation.

Results and Discussion: The water shortage decreased the carotenoid content of leaves in the red bean plant. The maximum carotenoid content is observed once in 8 days with irrigation levels of 18.41, with the minimum carotenoid content observed for severe stress (irrigation once in 14 days) by 11.06 mg/g. Increasing the irrigation interval significantly reduced the amount of chlorophyll b and an in the leaves so that in the severe stress treatment (irrigation once in 14 days), this reduction was more evident compared to the normal irrigation treatment (irrigation once in 8 days). Moreover, the interaction effect of the two investigated factors was significant on proline, relative leaf water content, soluble sugars, protein percentage, and grain yield. Drought stress increases the number of

soluble sugars in red bean plants compared to normal irrigation conditions. The maximum soluble sugar in severe stress (irrigation once every 14 days) is 80.35 mg/g and the control treatment and the minimum soluble sugar in normal irrigation (irrigation once every 8 days) is 36.33 mg/g and control treatment. According to the results of comparing the means, the maximum proline content was observed in the levels of irrigation once every 14 days, and the control treatment (no use) was equal to 18.59 mg/g of fresh weight and the minimum content of proline was observed in the levels of irrigation once every 8 days and Humic acid treatment at the rate of 8.31 mg per fresh weight. In addition, the maximum relative water content of leaves observed in irrigation levels once every 8 days and humic acid treatment and the minimum relative water content of leaves observed in irrigation levels once every 14 days and control treatment (no use), as 86.32 and 51.82, respectively. The grain protein percentage increased following applying drought stress and increasing the irrigation interval, so that the maximum percentage of grain protein was obtained in the treatment of irrigation every 14 days and no stimulants, with the minimum observed in the treatment of irrigation once every 8 days and the use of potassium. So that the maximum grain yield was obtained in the treatment of irrigation once every 8 days and humic acid at the rate of 3076 kg/ha and the minimum in the treatment of irrigation once 14 days and the absence of growth stimulants at the rate of 1221 kg/ha

Conclusion: The results of a one-year experiment show that the biochemical compounds such as proline and soluble sugars increase and the chlorophyll content of the leaves decreases drastically with the application of drought stress in red beans, which leads to a severe drop in grain yield in the treatments under stress.

Keywords: Amino acid ,Leaf chlorophyll, Proline, Protein percentage, Relative water content