Iranian Journal of Soil and Water Research ISNN: 2423-7833
Homepage: http://ijswr.ut.ac.ir

Effect of Application of Salicylic Acid and Biofertilizers on Physiological and Biochemical Characteristics of Chickpea (Cicer arietinum) Cultivars in Rainfed Conditions

Hamzeh Shiroui[1], Ali Hatami [2]✉, Ehsanullah Zayd Ali [3], Yaser Alizadeh[4]

1. Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, Email: hamzahshirui@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, Email: A.hatami@ilam.ac.ir
3. Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, Email: e.zeidali@ilam.ac.ir
4. Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, Email: y.alizadeh@ilam.ac.ir

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: May. 14, 2022

Revised: Sep. 12, 2022

Accepted: Sep. 14, 2022

Published online: Oct. 23, 2022

Keywords:
Soluble proteins,
Proline,
Superoxide dismutase,
Fertilizing phosphate 2,
Catalase,
Chlorophyll.

ABSTRACT

In order to investigate the effect of salicylic acid and bio fertilizers on the physiological and biochemical characteristics of chickpea cultivars in the dry conditions of Kermanshah province, an experiment was conducted in the form of split factorial design based on randomized complete blocks in three replications in 2018 in the farm of Homil Agricultural Jihad Center in Islam city. Abad-e gharb was implemented. The experimental treatments include three levels (without use, half mill molar and one mill molar) of salicylic acid foliar spraying before flowering and the application of biological fertilizer as a seed in four levels (control, fertile phosphate 2, Petabaror 2 and Petabaror 2 and fertile phosphate 2) and four chickpea varieties. (Adel, Mansour, Azkan and Gokso) and factorially placed in sub-plots. The results of the variance analysis of the data showed that all traits of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, proline, soluble protein, catalase, superoxide dismutase were affected by salicylic acid and bio fertilizers at the level of 1%, and these traits except the superoxide dismutase trait were also affected by the number. The interaction between salicylic acid and biofertilizers had a significant effect on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, proline and catalase. The highest percentage of proline and soluble proteins was obtained in the simultaneous combination of salicylic acid and biofertilizers for Adel variety. With the use of 1 millimolar salicylic acid, the amount of proline increased by 21.6% compared to its non-use. So that the highest amount of proline was 0.0884 mg/g fresh weight of the leaf related to the treatment of 1 millimolar salicylic acid. Also, the highest amount of catalase enzyme was in the treatment of not using biofertilizers (0.2937 enzyme units per milligram of protein) and the lowest value was related to the combined use of Fertilizer + Petaferyl phosphate (0.2290 enzyme units per milliliter of protein). So that the amount of catalase enzyme was 22% lower in the treatments using biofertilizers compared to the treatments using fertilizers. Therefore, it can be stated that the simultaneous use of salicylic acid and biofertilizers increase the mentioned physiological activities. What is evident from the results is that the combined use of salicylic acid and biofertilizers had the highest performance compared to the separate use of applied treatments.

Cite this article: Shiroui, H., Hatami, A., Zayd Ali, E., Alizadeh, Y. (2022) Effect of application of salicylic acid and biofertilizers on physiological and biochemical characteristics of chickpea (Cicer arietinum) cultivars in rainfed conditions, http//doi.org/10.22059/ijswr.2022.343023.669269, *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 53 (9), 2161-2173.

© The Author(s). Publisher: University of Tehran Press.
DOI:https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.343023.669269

مجله تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۳، شماره ۹ شاپا: ۷۸۳۳-۲۴۲۳
Homepage: http://ijswr.ut.ac.ir

اثر کاربرد سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام نخود (Cicer arietinum) در شرایط دیم

حمزه شیرویی[۱]، علی حاتمی[۲]✉، احسان‌اله زیدعلی[۳]، یاسر علیزاده[۴]

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، ایمیل: hamzahshirui@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، ایمیل: A.hatami@ilam.ac.ir

۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، ایمیل: e.zeidali@ilam.ac.ir

۴. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، ایمیل: y.alizadeh@ilam.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۶/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۳
تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۸/۱

واژه‌های کلیدی:
پروتئین‌های محلول،
پرولین،
سوپراکسید دیسموتاز،
فسفات بارور۲،
کاتالاز،
کلروفیل.

چکیده

به منظور بررسی اثر سالیسلیک اسید و کودهای زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد چهار رقم نخود در شرایط دیم استان کرمانشاه، آزمایشی در قالب طرح اسپلیت فاکتوریل بر پایه بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۷ در مزرعه مرکز جهاد کشاورزی حمیل از توابع شهرستان اسلام آبادغرب اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح(بدون مصرف، نیم میلی‌مولار و یک میلی‌مولار) محلول‌پاشی سالیسلیک اسید قبل از گلدهی و کاربرد کود بیولوژیک بصورت بذرمال در چهار سطح (شاهد، فسفات بارور ۲، پتابارور ۲ و پتابارور ۲ و فسفات بارور ۲) و چهار رقم نخود (عادل، منصور، آزکان و گوکسو) و بصورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کلیه صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین، پروتئین محلول، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز در سطح یک درصد تحت تاثیر سالیسلیک‌اسید و کودهای زیستی قرار گرفتند. همچنین این صفات بجز صفت سوپر اکسید دیسموتاز نیز تحت تاثیر رقم نیز قرار گرفتند. اثر متقابل سالیسلیک اسید و کودهای زیستی تاثیر معنی‌داری بر کلروفیلa، کلروفیلb ، کلروفیل کل، پرولین و کاتالاز داشت. بیشترین درصد پرولین و پروتئین‌های محلول در ترکیب همزمان سالیسلیک‌اسید و کودهای زیستی برای رقم عادل بدست آمد. با کاربرد سالیسلیک‌اسید یک میلی‌مولار مقدار پرولین۲۱/۶ درصد نسبت به عدم کاربرد آن افزایش نشان داد. بطوری که بیشترین مقدار پرولین ۰/۰۸۸۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ مربوط به تیمار کاربرد یک میلی‌مولار سالیسلیک اسید بود. همچنین بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در تیمار عدم مصرف کودهای زیستی (۰/۲۹۳۷ واحد آنزیم به ازای هر میلیگرم پروتئین) و کمترین مقدار مربوط به مصرف توام فسفات بارور۲+پتابارور۲ (۰/۲۲۹۰ واحد آنزیم به ازای هر میلیگرم پروتئین) بود. به طوری که میزان آنزیم کاتالاز در تیمارهای کاربرد کودهای زیستی نسبت به تیمارهای مصرف کود، ۲۲ درصد کمتر بود. بنابراین می توان اظهار داشت که استفاده همزمان از سالیسلیک‌اسید و کودهای زیستی باعث افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیکی مذکور میشوند. انچه که از نتایج مشهود است این است که کاربرد توام سالیسلیک‌اسید و کودهای زیستی بیشترین عملکرد را نسبت به مصرف جداگانه تیمارهای اعمال شده دارا بود.

استناد: شیرویی؛ حمزه، حاتمی؛ علی، زیدعلی؛ احسان اله، علیزاده؛ یاسر، (۱۴۰۱) اثر کاربرد سالیسلیک‌اسید و کودهای زیستی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام نخود (Cicer arietinum) در شرایط دیم، *مجله تحقیقات آب و خاک ایران*، http//doi.org/ 10.22059/ijswr.2022.343023.669269، ۵۳ (۹)، ۲۱۷۳- ۲۱۶۱.

DOI:https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.343023.669269

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

مقدمه

بیش از ۹۰ درصد تولید حبوبات در کشور ما در شرایط دیم با بارندگی بسیار کم انجام می‌شود. بنابراین انطباق با این شرایط خشک، ضمن حفظ پایداری تولید، باید به عنوان یکی از اصول اساسی در تدوین و اجرای سیاست‌ها و دستورالعمل‌های تحقیقاتی در رابطه با حبوبات مورد توجه قرار گیرد(Ahmadi et al., 2019). نخود *(Cicer arietinum L)* با سطح زیرکشت ۵۶۱۰۲۹ هکتار، ۶۵ درصد از سطح زیرکشت و ۴۰ درصد از تولید حبوبات ایران در سال ۱۳۹۸را به خود اختصاص داده‌است. استان کرمانشاه با ۱۵۹۹۹۸ هکتار معادل ۲۸/۵درصد سطح زیرکشت با تولید ۲۵/۲ درصد نخود رتبه اول را در ایران دارد. میانگین عملکرد نخود در ایران کمتر از نصف میانگین جهانی است. در ایـران ۹۸/۵۵درصـد سطح زیرکشت نخود، دیم بوده و متوسط عملکرد ۵۲۰ کیلوگرم در هکتار است که در مقایسه با میانگین جهانی و کشورهای مهم تولید کننده نخود بسیار پایین است (Ahmadi et al., 2019). عوامل متعددی در پایین بودن متوسط عملکرد نخود نقش دارند که از آن جمله می‌توان به تنش خشکی، مدیریت‌های نامناسب زراعی، حاصلخیزی اندک خاک‌ها و نیز طغیان علف‌های هرز اشاره کرد. یکی از عوامل کاهش عملکرد، عدم تامین نیازهای غذایی کافی در مزارع است. به نظر می‌رسد این گیاه نسبت به سایر حبوبات با شرایط آب و هوایی کشور سازگاری بیشتری دارد و با توجه به محدودیت‌های موجود در تامین پروتئین‌های حیوانی، می‌تواند بخشی از پروتئین مورد نیاز کشور را تامین کند (Sabaghpour., 2015). هورمون‌های گیاهی به عنوان ابزاری قدرتمند و پایدار در کاهش اثرات نامطلوب تنش‌های زیستی و غیرزیستی بر گیاهان شناخته می‌شوند. سالیسیلیک‌اسید یا بنزوئیک ارتو هیدروکسی اسید یک ترکیب فنلی است که توسط سلول‌های ریشه در تعداد زیادی از گیاهان تولید می‌شود و نقش مهمی در رشد و نمو گیاه به عنوان ماده‌ای شبه هورمونی ایفا می کند(Khan., 2015). سالیسیلیک‌اسید در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند رشد گیاه، جذب یون، جوانه زنی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌های محلول، پرولین، بر متابولیت‌ها (گلوتاتیون، اسید اسکوربیک) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) اثر می‌گذارد و اثرات سمی تنش را کاهش داده و در نتیجه در افزایش عملکرد نقش اساسی دارد (Pakar,. 2016). پرولین حلالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌های گوناگون را تحت تاثیر قرار می‌دهد و از تغییر ماهیت آن‌ها جلوگیری می کند(Noorzad et al., 2015). Babaei et al., (2019) گزارش کردند که کاربرد کودهای زیستی به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب حذف گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش نشت الکترولیت برگ شده و همچنین این امر را به افزایش محتوای کلروفیل برگ و عملکرد دانه نسبت دادند(Babaei., 2019). استفاده طولانی مدت و فراوان از کودهای شیمیایی معمولی علاوه بر افزایش آلودگی و آسیب‌های زیست محیطی می‌تواند پیامدهایی از جمله برهم زدن تعادل اسیدی، تجمع عناصر سنگین در خاک، کاهش حلالیت عناصر ریز مغذی و تخریب ساختار خاک را به همراه داشته باشد (Khan., 2015). بر این اساس، کاهش مصرف کودهای شیمیایی، ترکیب یا جایگزینی آنها با کودهای آلی و بیولوژیکی مختلف به منظور دستیابی به تولید پایدار در کشاورزی بسیار مورد توجه قرار گرفته است(Rudresh., 2005). کودهای زیستی، شامل باکتری‌ها یا قارچ‌های مفیدی هستند که از طریق روش‌هایی مانند تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات، آزادسازی یون پتاسیم، تأمین آهن و دیگر عناصر به بهبود تغذیه گیاه کمک کرده و علاوه بر آن با کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک و سایر اثرهای مفید، تحریک رشد گیاه را به دنبال دارند(Ansari et al., 2015). با توجه به نکات بیان شده هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر کاربرد کودهای زیستی و اسیدسالیسیلیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، بعنوان شاخص‌هایی از مقاومت به تنش خشکی در شرایط دیم، در ارقام نخود در استان کرمانشاه بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر کاربرد کودهای زیستی و سالیسیلیک‌اسید بر برخی صفات فیزیولوژیک چهار رقم نخود پاییزه، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی مرکز جهادکشاورزی حمیل در استان کرمانشاه با موقعیت طول جغرافیایی ۴۶درجه و ۴۶ دقیقه و ۵۱ ثانیه و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه ۵۵ دقیقه و ۵۸ ثانیه با ۱۳۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ و در شرایط آب و هوایی حمیل اجرا شد(جدول۱). این تحقیق در قالب طرح آزمایشی اسپلیت فاکتوریل بر پایه بلوک کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. عوامل مورد ازمایش شامل کاربرد سالیسیلیک‌اسید در سه سطح (عدم استفاده بعنوان شاهد، محلولپاشی با غلظت نیم و یک میلی‌مولار) بعنوان عامل اصلی بود. و کاربرد کود بیولوژیک بصورت بذرمال در چهار سطح (شاهد، فسفات بارور ۲، پتابارور۲ و مخلوط پتابارور۲ و فسفات بارور ۲) و چهار رقم نخود (عادل، منصور، آزکان و گوکسو) و بعنوان عامل فرعی قرار گرفتند. سالیسیلیک‌اسید تولید شرکت مرک آلمان وکودهای بیولوژیک مصرف‌شده در آزمایش، محصول شرکت زیست فناورسبز بود که هر بسته از این کودهای بیولوژیک برای یک هکتار زراعت کاربرد دارد

همچنین ارقام مورد استفاده در این طرح از سازمان تحقیقات کشاورز کرمانشاه تهیه گردید. محلول سالیسلیک اسید تقریبا با شروع اولین گل‌دهی اعمال گردید. عملیات تلقیح بذرهای نخود با تهیه سوسپانسیون باکتری‌های فوق در ترکیب با آب مقطر قبل از کاشت انجام شده و سپس بذرها در سایه خشک و آماده کشت شدند. در این آزمایش هرکرت شامل ۵ ردیف کاشت به طول ۲متر، فاصله بین خطوط کاشت ۳۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. فاصله بین دو کرت فرعی مجاور ۷۰ سانتی‌متر، فاصله بین کرت‌های روبرو جهت تسهیل در رفت و آمد ۱ متر و فاصله تکرارها از یکدیگر ۲ متر مدنظر قرار گرفت. پس از شخم و تهیه بستر بذر نقشه طرح اجرا و اقدام به کاشت گردید. قبل از کاشت، به منظور مشخص شدن خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، از عمق صفر تا ۳۰ سانتیمتری خاک نمونه‌برداری انجام گرفت (جدول۲). پس از سبز شدن گیاهچه‌ها، عملیات سله شکنی و کنترل علف‌های‌هرز انجام پذیرفت . با وزن دقیق از ماده خالص سالیسیلیک‌اسید و حل کردن آن در حجم معینی از آب خالص، محلول شیمیایی با غلظت نیم و یک مولار تهیه شد.محلول سالیسیلیک‌اسید تقریبا با شروع اولین گل‌دهی ، بر روی بوته‌های نخود محلول‌پاشی گردید. در طی مراحل رشدی گیاه با بررسی‌های انجام شده از مزرعه، در صورت مشاهده هر گونه آفات و بیماری‌ها برای جلوگیری ازصدمات احتمالی اقدامات لازم اتخاذ شد برای مبارزه با افات هلیوتیس و کرم برگخوار نخود از سم فن والریت و برای پیشگیری از بیماری‌ها از قارچکش داکونیل استفاده شد.

به منظور انجام عملیات اندازه‌گیری صفات میزان کلروفیل، پرولین، پروتئین محلول، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مرحله گلدهی پنج بوته از هر کرت برداشت (با حذف خطوط حاشیه و نیم متر از ابتدا و انتهای هر کرت، نمونه برداری از دو خط وسط هر کرت و به تعداد پنج بوته انجام شد) و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد.

به منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ ابتدا ۰/۵گرم از بافت برگ را با افزودن پنج میلی‌لیتر استون ۸۰درصد با استفاده از دستگاه هموژن، هموژن کرده و با استفاده از استون ۸۰ درصد به حجم ۱۵میلی‌لیتر رسانده و سپس نمونه‌ها را درون دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. میزان جذب محلول رویی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل قرائت شد. میزان کلروفیل با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Arnon .,1967).

$$\text{Chl a(mg g-1 Fw)} = (12.7A_{663} - 2.69A_{645}) \times V/W \times 100$$
$$\text{Chl b(mg g-1 Fw)} = (22.9A_{645} - 4.69A_{663}) \times V/W \times 100$$
$$\text{Chl a + b (mg g-1 FW)} = (20.2A645 + 8.02A663) \times V/W \times 1000$$

برای اندازه گیری میزان پرولین ابتدا ۰/۵ گرم از هر نمونه گیاه را توزین شد و به آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد اضافه و در هاون چینی خوب سائیده و هموژنیزه شدند، سپس مخلوط حاصل در درون لوله آزمایش ریخته شده و ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده برداشته و در یک لوله آزمایش ریخته شد . سپس به هر لوله ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه گردید. لوله‌های آزمایش در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند، پس از یک ساعت لوله‌ها جهت خاتمه واکنش در داخل حمام یخ گذاشته شدند. مدت زمان خاصی برای این مرحله ذکر نشده و به محض سرد شدن می‌توان وارد مرحله بعد شد. پس از سرد شدن لوله‌ها، به آنها ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و ۳۰ ثانیه بهم زده شدند و پس از تشکیل دو فاز مجزا قسمت رنگی برداشته شد و میزان جذب آنها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. آنگاه غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم ماده تر با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Bates., 1973):

$$\text{پرولین} = \frac{\text{115/5÷ تولوئن مصرفی ×عدد خوانده شده توسط دستگاه}}{\text{5÷ وزن نمونه(گرم)}} \times ۱۰۰$$

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته نمونه‌برداری شد. مقداری از برگ در هاون چینی قرار داده و با افزودن نیتروژن مایع کاملاً خرد شد. ۰/۵ گرم از نمونهٔ خردشده به لوله‌های کوچک مناسب منتقل شد، سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۰/۵مولار به آنها اضافه و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن، محلول رویی به دقت جدا و دوباره سانتریفیوژ و در فریزر ۸۰- درجهٔ سلسیوس نگه‌داری شد. سنجش فعالیت آنزیم به‌روش Chance and Maehly (1995) صورت گرفت. ۱میلی‌لیتر محلول واکنشی شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ و آب‌اکسیژنهٔ ۱۵ میلی‌مولار و عصارهٔ آنزیمی استخراج شد. محلول واکنش در کووت ریخته و قبل از اندازه‌گیری هیدروژن پراکسید ۱۵ میلی‌مولار به آن افزوده شد. سپس مقدار جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲دقیقه در ۲۵درجهٔ سلسیوس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نهایت، فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب در دقیقه بیان شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با روش(1977) Giannopolitis and Ries و با استفاده از سنجش مهار احیاء نوری متیل‌تیازول تترازولیوم (MTT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد. بدین منظور ابتدا محلول بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH۷/۴) تهیه شد. سپس برای تهیه مخلوط واکنش به ترتیب متیونین ۱۳میلی‌مولار، EDTA ۰/۱میلی‌مولار، (MTT) ۷۵میکرومولار و ریبوفلاوین ۴ میکرومولار اضافه و در تاریکی نگهداری شد. سپس از هر نمونه عصاره ۱۰۰ میکرولیتر در هر لوله آزمایش ریخته و ۳میلی‌لیتر از محلول فوق به آن اضافه گردید و با قراردادن آنها تحت روشنایی لامپ فلورسنت (۴۰w) بلافاصله واکنش آغاز گردید. پس از گذشت ۱۵دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰،شرکت Unicoآمریکا) خوانده شد. به‌عنوان شاهد ۳میلی‌لیتر از محلول فوق که فاقد عصاره بود. بدون آنکه نور ببیند درون کووت ریخته و دستگاه با آن صفر شد. برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز علاوه بر این شاهد نیاز به نمونه کنترل نیز بود. این نمونه که شاهد روشنایی نامیده شد، شامل ۳میلی‌لیتر از محلول واکنش (فاقد عصاره) است که زیر نور فلورسنت قرار گرفت. میزان فعالیت آنزیم SOD در نمونه‌ها در مقایسه با شاهد روشنایی سنجیده شد. به دلیل عدم وجود آنزیم در شاهد روشنایی، احیاء MTT در حضور نور بطور۱۰۰درصد انجام گرفته است میزان جذب نمونه شاهد در ۵۶۰ نانومتر نشان دهنده ۱۰۰٪ احیاء نوری MTT است و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد؛ بنابراین یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی است که از احیاء ۵۰درصد MTT ممانعت می‌کند. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی در ۵۶۰ نانومتر نشاندهنده مهار احیاء نوری MTT در حضور آنزیم SODموجود در نمونه بود. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Giannopolitis and Ries, 1977).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 انجام شد. تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در قالب طرح اسپلیت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند. همچنین برای رسم نمودارها نرم‌افزار Excel به کار رفت(Maehly and Chance., 1995).

جدول ۱- میانگین شاخص‌های آب و هوایی در طول دوره رشد نخود پاییزه در سال ۱۳۹۷ بخش حمیل (محل آزمایش)

سال	ماه	بارندگی (میلیمتر)	حداقل رطوبت نسبی (٪)	حداکثر رطوبت نسبی (٪)	میانگین حداقل دما (درجه سلسیوس)	میانگین حداکثر دما (درجه سلسیوس)
۱۳۹۷	آذر	۹۲/۸	۶۶	۹۷	۲/۴	۱۱/۳
	دی	۶۶	۴۶	۹۳	-۱/۷	۹/۷
	بهمن	۹۲	۴۴	۹۴	-۱/۵	۱۰/۹
	اسفند	۷۵/۸	۴۰	۹۱	-۰/۷	۱۱/۷
۱۳۹۸	فروردین	۶۰	۴۲	۹۴	۴/۳	۱۶/۶
	اردیبهشت	۱۷/۴	۲۴	۹۰	۵/۳	۲۴/۳
	خرداد	۰	۱۳	۷۶	۱۰/۵	۳۳/۶

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	نیتروژن کل (٪)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	ماده آلی (٪)	بافت	عمق (سانتی متر)
۲۱۰	۱۲	۰/۱۳۰	۷/۳	۰/۳۴۵	۰/۶۶	لوم رسی	۳۰-۰

نتایج و بحث

کلروفیل a، b و کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات کلروفیل a، کلروفیل b، و کلروفیلکل نشان داد آثار اصلی سالیسیلیک‌اسید، کودزیستی و رقم بر کلروفیل a و کل و اثر اصلی سالیسیلیک‌اسید و رقم بر کلروفیلb در سطح یک درصد معنی دار شد. همچنین اثر دوگانه سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بر کلروفیل a، کلروفیل b، و کلروفیلکل معنی دار بود و سایر اثرات متقابل تاثیر معناداری نداشت (جدول۳). جدول مقایسه میانگین (جدول۵) نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیلa با میانگین ۳/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ مربوط به تیمار سالیسیلیک‌اسید یک میلی‌مولار در کاربرد کودزیستی مخلوط توام فسفات بارور۲ + پتابارور۲ و کمترین مربوط به شاهد (بدون مصرف کودزیستی و سالیسیلیک‌اسید) با میانگین ۲/۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ بود. بیشترین (۲/۲۲ میلی‌گرم در گرم برگ تازه) و کمترین (۱/۵۵میلی‌گرم در گرم برگ تازه) مقادیر کلروفیل b به ترتیب مربوط به تیمار سالیسیلیک‌اسید نیم

میلی‌مولار با کاربرد کودزیستی فسفات بارور۲ + پتابارور۲ و تیمار بدون مصرف سالیسیلیک‌اسید و کودزیستی مشاهده گردید. بیشترین (۵/۳۰۸ میلی‌گرم در گرم برگ تازه) و کمترین (۲۲۴/۰ میلی‌گرم در گرم برگ تازه) مقادیر کلروفیل کل نیز از تیمار سالیسیلیک‌اسید نیم میلی‌مولار با کاربرد کودزیستی فسفات بارور۲ و تیمار بدون مصرف سالیسیلیک‌اسید و کودزیستی حاصل شد(جدول۵). تجمع کلروفیل در بافت سبز گیاه یکی از مهمترین صفات فیزیولوژیکی است که ارتباط مستقیمی با فتوسنتز و ماده خشک گیاهی دارد و میزان آن در شرایط تنش با افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداز و کلروفیلاز تا حد زیادی کاهش می یابد(Baghebani et al., 2019). با کاربرد خارجی سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش محتوای کلروفیل افزایش یافت و به دنبال آن گیرنده‌های فتوسنتزی به همراه مواد قندی گیاه نیز افزایش پیدا کرد. بنابراین تأثیر سالیسیلیک‌اسید بر فتوسنتز و رشد گیاهان تیمار شده تحت شرایط تنش مثبت بود و سبب تسریع رشد مجدد و کاهش خسارت پس از تنش‌زدایی گردید (EL-Tayeb., 2005). افزایش غلظت کلروفیل در اثر تلقیح با باکتری در گیاه نخود (Momeni et al,. 2020) و گلرنگ بهاره (Heshmati., 2016) گزارش شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد کاربرد کودهای زیستی بر میزان محتوی کلروفیل a و b به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی دار شد(Chavoshi et al., 2019). Rezaei et al., (2020) اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و گلیسین بتائین را بر خواص مورفوفیزیولوژیکی کارلا در شرایط کم آبی بررسی کردند و اظهار داشتند که سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش محتوای کلروفیل کل می‌شود که می‌تواند به دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلولی، سنتز پروتئین‌های جدید باشد. شینده و خاده (Shinde & Khade, 2019) با بررسی اثر کودهای زیستی بر میزان کلروفیل ذرت گزارش دادند که تیمار کودهای زیستی کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دادند (Shuriabi., 2012) Ansari et al (2015).در مطالعه خود در مورد تأثیر شش کودزیستی مختلف از جمله باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات بر روی نخود دریافتند که تیمارهای کاربرد کودزیستی ، محتوای کلروفیل را در گیاه نخود افزایش داد(Abou-Aly &. Mady., (2009. نیز گزارش دادند که کلروفیل a در برگ گندم به دلیل تلقیح با کودزیستی نسبت به شاهد ۳۷/۱ درصد افزایش یافت، همچنین در این آزمایش، میزان کلروفیل b در تیمار مصرف کودزیستی ، ۶۴/۸ درصد بیشتر از شاهد بود. دمین(2008) .Demin گزارش داد که مقدار کلروفیل با تلقیح همزمان با سویه‌های Rhizobium و PSB افزایش یافت. باکتری‌های حل‌کننده فسفر با افزایش میزان جذب فسفر در گیاهان، بر محتوای کلروفیل a، b و کل اثر مثبت داشتند.

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بر صفات فیزیولوژیک ارقام نخود

S.O.V	درجه آزادی	کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل کل	پرولین	پروتئین محلول	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	عملکرد
بلوک	۲	۰/۲۸۵۴	۰/۰۱۹۱	۰/۱۵۸۸	۰/۰۰۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳۲	۰/۰۰۱	۰/۵۴۱۱	۹۲۹۴۲۴/۴۰۷
سالیسیلیک‌اسید	۲	۰/۸۶۲۴**	۱/۰۹۶**	۲/۳۶۳۵**	۰/۰۰۴۴**	۰/۰۰۰۵۲**	۳/۵۷۶۴**	۳۵/۹۰۷۵**	۸۱۵۲۸۹/۴۴۷**
بلوک × سالیسیلیک‌اسید	۴	۰/۱۶۶	۰/۱۲۴۵	۰/۴۵۷۴	۰/۰۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۲۱	۰/۰۰۴۸	۵/۵۶۴۸۶	۴۷۸۷۴/۰۲۶
کودزیستی	۳	۰/۷۴۷۱**	۰/۱۵۸۸^{ns}	۱/۴۶۱۸**	۰/۰۰۲۷**	۰/۰۰۰۶۴**	۳/۰۹۸۱**	۶۰/۴۷۲۴**	۵۴۱۷۶۸/۰۰۸**
رقم	۳	۱/۶۵۵۶**	۰/۵۰۹**	۱/۱۷۰۸**	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۳۲*	۰/۰۱۷۶**	۰/۲۶۵۲^{ns}	۱۸۷۳۹۳/۷۳۴**
کودزیستی × سالیسیلیک‌اسید	۶	۰/۵۵۴۷**	۰/۳۸۳۲**	۰/۷۴۴۴**	۰/۰۰۰۰۶**	۰/۰۰۰۰۷۹^{ns}	۰/۳۶۲۳**	۵/۱۷۶۶^{ns}	۸۲۵۸۴/۲۲۶*
رقم × سالیسیلیک‌اسید	۶	۰/۱۲۶۱^{ns}	۰/۰۱۴^{ns}	۰/۱۵۸^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۳*	۰/۰۰۰۱۷^{ns}	۰/۰۰۲۹^{ns}	۰/۲۱۳۵^{ns}	۶۷۲۱/۵۸۶^{ns}
رقم × کودزیستی	۹	۰/۰۳۷۶^{ns}	۰/۰۰۶۶^{ns}	۰/۰۴۱۹^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۷^{ns}	۰/۰۰۰۰۶^{ns}	۰/۰۰۵۹^{ns}	۰/۱۱۰۲^{ns}	۲۱۸۰۲/۸۰۶^{ns}
رقم × کودزیستی × سالیسیلیک‌اسید	۱۸	۰/۰۸۹۹^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۸۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۴**	۰/۰۰۰۱۶*	۰/۰۰۱۸^{ns}	۰/۱۱۱۱^{ns}	۲۰۸۹۲/۷۱۳^{ns}
خطا	۹۰	۰/۱۰۱۶۹	۰/۰۵۹۳	۰/۱۷۴	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۸	۰/۰۰۳۸	۳/۱۴۱۲	۳۱۶۱۷/۰۰۶
ضریب تغییرات(٪)		۱۰/۹۶	۱۳	۸/۵۹	۱/۴۳	۹/۲۸	۲/۲۹	۶/۰۴۸	۱۷/۱۳۴

***،**و ns به ترتیب بیانگر اثر معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم اختلاف معنی دار است.**

پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی سالیسیلیک اسید، کودهای زیستی و رقم و همچنین اثر متقابل دوگانه سالیسیلیک‌اسید در کودزیستی و اثر سه گانه سالیسیلیک‌اسید در کودزیستی در رقم بر محتوای پرولین در سطح یک درصد و اثر متقابل سالیسیلیک‌اسید در رقم در سطح پنج درصد معنی دار بود (جدول۳). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه محتوای پرولین برگ نشان داد که بیشترین میزان پرولین برگ برای رقم عادل از مصرف سالیسیلیک‌اسید یک میلی‌مولار و مخلوط فسفات‌بارور۲ و پتابارور۲ با میانگین ۰/۰۹۲ میلی‌گرم برگرم وزن تازه وکمترین آن برای رقم عادل با میانگین ۰/۰۵۹ در شرایط عدم مصرف سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی به‌دست آمد

(جدول۵). همچنین بیشترین مقدار پرولین برای رقم منصور، آزکان و گوکسو از مصرف سالیسلیک اسید یک میلی‌مولار و کودزیستی فسفات‌بارور۲ (به ترتیب ۰/۰۸۲ و ۰/۰۸۳ ۰و ۰/۰۸۷ میلی‌گرم برگرم وزن تازه) و کمترین آن در تیمار عدم مصرف سالیلیلیک‌اسید و کودهای زیستی(به ترتیب ۰/۰۵۷ ۰ و ۰/۰۵۶ و ۰/۰۵۶میلی‌گرم برگرم وزن تازه) حاصل گردید (جدول۵).(Brito et al., (2019 پیشنهاد کردندکه استفاده از غلظت‌های مناسب سالیسیلیک‌اسید یک ابزار کارآمد برای بهبود هموستاز سلولی و رشد گیاهان تحت دوره‌های خشکسالی مکرر است. استفاده از سالیسیلیک‌اسید همراه با تنش ، فرآیندهای فیزیولوژیکی خاصی را افزایش می‌دهدکه می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش افزایش دهد. افزودن سالیسیلیک‌اسید در غلظت‌های مختلف می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش با افزایش مقدار پرولین بهبود بخشد (Yazdanpanah et al., 2011). به نظر می‌رسد. محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید باعث تنش اسمزی و به دنبال آن افزایش تولید اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول می‌شود. در داخل سلول گیاهی، پرولین به عنوان وسیله ای برای حفظ تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و واکوئل عمل می‌کند. کاهش مصرف پرولین برای ساخت پروتئین در هنگام تنش ممکن است یکی از دلایل احتمالی تجمع پرولین باشد (Seadatmand & Ashtari., 2012). با توجه به در دسترس بودن عناصر غذایی در تیمارهای کودزیستی و افزایش تجمع پرولین به دنبال استفاده از آن‌ها، می‌توان دریافت که گیاه در هنگام دسترسی به عناصر غذایی از پرولین و سایر ترکیبات نیتروژنی برای تنظیم اسمز استفاده می‌کند. تجمع پرولین به دلیل تجزیه پروتئین سنتتاز و کاهش تبدیل پرولین به پروتئین و در نتیجه کاهش رشد است. بنابراین در هنگام تنش از پروتئین‌های گیاهی برای تولید پرولین استفاده می‌شود که منجر به کاهش رشد گیاه و در نهایت توقف می‌شود(Mittler, 2006). ساختار نیتروژنی پرولین باعث استفاده از برخی کودهای تامین کننده نیتروژن برای کمک به افزایش تولید پرولین در گیاه می‌شود (Noorzad et al., 2015). مطالعات نشان می‌دهدکه پرولین یک عامل محافظ برای آنزیم‌ها و ساختارهای درون سلولی است و رادیکال‌های آزاد یا یک ترکیب ذخیره ای کربن و نیتروژن برای بازیافت سریع در شرایط تنش از بین می‌برد (Davoodi et al.,2019).

جدول ٤- اثر متقابل سالیسیلیک‌اسید و کودزیستی بر صفات مورد بررسی ارقام نخود.

سالیسیلیک‌اسید	کودزیستی	کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل کل	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	عملکرد
		میلی‌گرم بر گرم			واحد آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین		کیلوگرم در هکتار
	بدون کود	۲/۴۷۸۳^{f}	۱/۵۵۵۰^{g}	۴/۰۳۳۳^{e}	۳/۳۶۱۷^{a}	۳۰/۱۱۶۷^{ab}	۷۸۸/۱۱^{e}
	پتاس بارور۲	۲/۹۰۹۲^{cde}	۱/۶۶۹۲^{fg}	۴/۵۷۸۳^{c}	۳/۱۷۲۵^{b}	۳۰/۵۵^{a}	۸۶۷/۷۰^{ef}
صفر میلی‌مولار	فسفات بارور۲	۲/۹۷۷۵^{bcde}	۱/۷۸۸۳^{def}	۴/۷۶۵۸^{cd}	۲/۹۳۲۵^{d}	۳۰/۱۴۱۷^{ab}	۸۲۵/۰۴^{e}
	پتاس بارور۲ + فسفات بارور۲	۳/۱۳۱۷^{bcd}	۱/۸۹۰۰^{cde}	۵/۰۲۱۷^{abc}	۲/۴۳۹۲^{i}	۳۰/۱۲۵۰^{ab}	۱۰۹۰/۶۹^{bcd}
	بدون کود	۲/۹۵۰۸^{bcde}	۱/۸۱۶۷^{def}	۴/۷۶۷۵^{cd}	۳/۰۷۴۲^{c}	۲۹/۱۲۵۰^{abc}	۸۵۷/۹۰^{ef}
	پتاس بارور۲	۲/۸۶۷۵^{de}	۱/۹۴۶۶^{bcd}	۴/۸۱۴۱^{bcd}	۲/۸۴۰۸^{e}	۲۹/۱۲۵۰^{abc}	۹۸۱/۲۸^{de}
نیم میلی‌مولار	فسفات بارور۲	۳/۱۸۸۳^{ab}	۲/۱۲۰۰^{ab}	۵/۳۰۸۳^{a}	۲/۷۵۸۳^{f}	۲۹/۰۸۳۳^{bc}	۱۲۲۶/۳۵^{ab}
	پتاس بارور ۲+ فسفات بارور۲	۲/۷۴۶۷^{e}	۲/۲۲۷۵^{a}	۴/۹۷۴۲^{abc}	۲/۲۵۲۵^{k}	۲۹/۲۴۱۷^{abc}	۱۲۱۶/۲۷^{abc}
	بدون کود	۲/۹۰۹۲^{cde}	۲/۰۸۵۰^{abc}	۴/۹۹۴۲^{abc}	۲/۳۷۵۰^{j}	۲۸/۴۴۱۷^{c}	۱۰۷۴/۴۵^{cd}
	پتاس بارور۲	۳/۱۵۳۳^{abc}	۱/۸۳۷۵^{def}	۴/۹۹۰۸^{abc}	۲/۶۲۸۳^{g}	۲۸/۶^{c}	۱۱۰۳/۷۱^{bcd}
یک میلی‌مولار	فسفات بارور۲	۳/۰۶۶۷^{bcd}	۱/۸۱۶۷^{def}	۴/۸۸۳۳^{bcd}	۲/۵۴۴۲^{h}	۲۸/۶۰۸۳^{c}	۱۱۰۹/۷۴^{bcd}
	پتاس بارور ۲+ فسفات بارور۲	۳/۳۹۷۵^{a}	۱/۷۳۴۲^{efg}	۵/۱۳۱۷^{ab}	۲/۱۷۸۳^{l}	۲۸/۴۵^{c}	۱۲۹۳/۹۱^{a}

در هر رقم و هر صفت، مقادیر دارای حروف مشابه در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد

پروتئین محلول برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فاکتورهای سالیسیلک اسید و کودهای زیستی در سطح احتمال یک درصد و فاکتور رقم و اثر متقابل سه جانبه در سطح پنج درصد اثر معنی‌داری بر صفت پروتئین‌های محلول داشتند (جدول۳).

در رقم عادل بالاترین میزان پروتیین‌محلول برگ در تیمار سالیسلیک‌اسید یک میلی‌مولاربه همراه کاربرد توام فسفات‌بارور۲و پتابارور۲ به میزان۰/۱۰۷ میلی‌گرم برگرم وزن تازه و کمترین میزان آن در تیمار عدم کاربرد سالیسلیک‌اسید و عدم مصرف کودزیستی فسفات‌بارور ۲ (۰/۰۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) بدست آمد. بیشترین و کمترین میزان پروتیین محلول برگ رقم منصور به ترتیب ۰/۱۰۹ میلی‌گرم برگرم وزن تازه در تیمار کاربرد سالیسیلیک‌اسید یک میلی‌مولار به همراه کاربرد توام پتابارور۲+فسفات‌بارور ۲ و ۰/۰۹۸ میلی‌گرم برگرم وزن تازه در تیمار عدم کاربرد سالیسیلیک‌اسید و کودزیستی پتابارور۲ بود. همچنین، بیشترین و کمترین میزان

پروتیین محلول برگ رقم آزکان به ترتیب ۰/۱۱۱ میلی‌گرم برگرم وزن تازه در تیمار سالیسلیک‌اسید یک میلی‌مولار وکاربرد کودزیستی فسفات بارور۲ و ۰/۰۹۸ میلی‌گرم برگرم وزن تازه در تیمار عدم کاربرد سالیسلیک‌اسید و عدم مصرف کودزیستی بود (جدول۵). برای رقم گوکسو بیشترین مقدار پروتیین محلول برگ از کاربرد تیمار سالیسیلیک‌اسید یک میلی‌مولار و عدم کاربرد کودزیستی با میانگین۰/۱۰۷میلی‌گرم برگرم وزن تازه و کمترین مقدار آن هم با میانگین ۰۹۸/ ۰میلی‌گرم برگرم وزن تازه از عدم مصرف سالیسلیک‌اسید و مصرف توام کودهای زیستی پتابارور۲و فسفات‌بارور۲ بدست آمد. (جدول۵). نتایج حاصله از این آزمایش با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد. Shuriabi et al., (2012) نشان داد که در شرایط بدون تنش، استفاده از سالیسیلیک‌اسید در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار نسبت به شاهد به طور معنی‌داری میزان پروتئین‌های محلول برگ را (۲۶ درصد) در رقم MCC414 افزایش داد. Momeni et al., (2020) اعلام کردند. کاربرد سالیسیلیک‌اسید همراه با کودهای زیستی مختلف باعث افزایش تولید پروتئین محلول در ارقام نخود نسبت به شاهد شد. افزایش محتوای پروتئین‌های محلول با جلوگیری از تجزیه آنها یا ایجاد تحریک در تولید آنها به عنوان یکی از مکانیسم های سالیسیلیک‌اسید برای القای تحمل تنش گزارش شده است. Padash et al., (2016). گزارش نمودند که کاربرد سالیسیلیک‌اسید به افزایش میزان پروتئین محلول در گیاه ریحان انجامید. برخی دیگر از پژوهشگران نیز افزایش میزان پروتئین محلول در پی کاربرد سالیسیلیک‌اسید را گزارش نمودند (Momeni et al,. 2020). همچنین Sandhya et al., (2010) گزارش دادند که بیشترین میزان پروتئین در برگ‌های گیاهچه‌های ذرت با سویه های GPA-P45 و GRF HYYP52 در شرایط بدون تنش مشاهده شد. این نشان می‌دهدکه پروتئین محلول برگ می‌تواند تحمل به تنش درگلرنگ را با مصرف فسفر و کودهای زیستی (کودها) در شرایط تنش افزایش دهد .افزایش محتوای پروتئین‌های محلول با جلوگیری از تخریب آنها یا انگیزش ساخت آنها، یکی از سازوکارهای اسیدسالیسیلیک برای القای تحمل به تنش گزارش شده است (Pirasteh-Anosheh et al., 2016). همچنین، افزایش مقدار پروتئین کل در برگ‌ها با افزودن کودهای زیستی شاید به علت جذب بیشتر و در دسترس نهادن نیتروژن و فسفر باشد(Ram Rao et al., 2007). Heshmati et al., (2016) با بررسی اثر کود شیمیایی و زیستی فسفر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی از صفات بیوشیمیایی گلرنگ بهاره بیان کردند که میزان پروتئین‌های محلول در برگ‌ها تحت اثر متقابل تنش خشکی، کود فسفر و کودزیستی فسفر بارور– ۲ قرارگرفته شد. استفاده از کود شیمیایی فسفر در تیمار تلقیح با کودزیستی نسبت به عدم مصرف کود فسفر، باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین‌های محلول برگ‌های گلرنگ در شرایط تنش آبیاری در مرحله زایشی شد، به‌طوری که در بین تیمارهای فسفر، بیشترین میزان پروتئین‌های محلول وجود داشت. در تیمار کودزیستی به میزان ۰/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن‌تربرگ با مصرف ۵۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به دست آمد. همچنین بیشترین میزان این صفت در تیمار عدم مصرف کودزیستی فسفر بارور –۲ در شرایط تنش زایشی با بیشترین میزان کود فسفر مشاهده شد(Momeni et al,. 2020).

جدول۵- مقایسه میانگین اثر سالیسیلیک‌اسید و کود بیولوژیک بر صفات پرولین و پروتیین در هر رقم نخود

نوع رقم		رقم عادل		رقم منصور		رقم آزکان		رقم گوکسو	
سالیسیلیک‌اسید	کود بیولوژیک	پرولین	پروتیین محلول	پرولین	پروتیین محلول	پرولین	پروتیین محلول	پرولین	پروتیین محلول
		(میلی‌گرم برگرم‌وزن‌تازه)							
۰	بدون مصرف کود	۰/۶d	۰/۰۹۵bcd	۰/۰۵۷c	۰/۰۹۸c	۰/۰۵۶d	۰/۰۹۸c	۰/۰۵۶d	۰/۱۰۳ab
	پتابارور۲	۰/۰۷۱bcd	۰/۰۹۵cd	۰/۰۶۴bc	۰/۰۹۸c	۰/۰۵۸cd	۰/۱۰۳abc	۰/۰۶۱bcd	۰/۱۰۱ab
	فسفات بارور۲	۰/۰۷۸abc	۰/۰۸۹d	۰/۰۶۸bc	۰/۱۰۰bc	۰/۰۶۷bcd	۰/۱۰۳abc	۰/۰۶۲bcd	۰/۱۰۳ab
	پتابارور۲+فسفات بارور۲	۰/۰۷۶abcd	۰/۰۹۴cd	۰/۰۷۰abc	۰/۰۹۷c	۰/۰۷۱ab	۰/۱۰۰bc	۰/۰۶۸bc	۰/۰۹۸b
۰/۵	بدون مصرف کود	۰/۰۶۸cd	۰/۰۹۵bcd	۰/۰۷۷ab	۰/۱۰۱bc	۰/۰۶۹bc	۰/۰۹۸c	۰/۰۵۸cd	۰/۱۰۴ab
	پتابارور۲	۰/۰۷۵abcd	۰/۰۹۴cd	۰/۰۶۹bc	۰/۰۹۹c	۰/۰۶۸bcd	۰/۱۰۵abc	۰/۰۶۷bc	۰/۱۰۳ab
	فسفات بارور۲	۰/۰۷۳bcd	۰/۰۹۹abc	۰/۰۶۷bc	۰/۱۰۱bc	۰/۰۷۵ab	۰/۱۰۴bc	۰/۰۶۳bcd	۰/۱۰۷a
	پتابارور۲+فسفات بارور۲	۰/۰۷۴abcd	۰/۱۰۳ab	۰۶۷۰bc	۰/۱۰۷ab	۰/۰۷۳ab	۰/۱۰۸ab	۰/۰۶۵bcd	۰/۱۰۱ab
۱	بدون مصرف کود	۰/۰۸۷ab	۰/۰۹۴cd	/۰۷۹ab	۰/۱۰۳ab	۰/۰۶۵bcd	۰/۱۰۵abc	۰/۰۷۰b	۰/۱۰۷a
	پتابارور۲	۰/۰۸۵abc	۰/۱۰۱abc	۰/۰۷۷ab	۰/۱۰۷ab	۰/۰۷۶ab	۰/۱۰۷ab	۰/۰۸۲a	۰/۱۰۴ab
	فسفات بارور۲	۰/۰۸۳abc	۰/۱۰۰abc	۰/۰۸۹a	۰/۱۰۶ab	۰/۰۸۳a	۰/۱۱۱a	۰/۰۶۱bcd	۰/۱۰۴ab
	پتابارور۲+فسفات بارور۲	۰/۰۹۲a	۰/۱۰۷a	۰/۰۸۲ab	۰/۱۰۹a	۰/۰۷۴ab	۰/۱۱۰a	۰/۰۸۷a	۰/۱۰۵ab

در هر رقم و هر صفت، مقادیر دارای حروف مشابه در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

کاتالاز

مطابق جدول تجزیه واریانس، مقادیر کاتالاز از نظر سطوح مختلف سالیسیلیک‌اسید، کودهای زیستی و رقم و اثر متقابل سالیسیلیک‌اسید و

کودهای زیستی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول۳). با توجه به جدول مقایسه میانگین اثرات ساده در برهمکنش سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بیشترین میزان کاتالاز (۰/۳۳۶۲ میلی‌گرم برگرم وزن تازه) متعلق به سطح عدم کاربرد سالیسیلیک‌اسید و کودزیستی بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی داری داشت و کمترین میزان این صفت مربوط به سطح یک میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید به همراه تیمار مصرف توام فسفات بارور۲ و پتابارور۲ با مقدار ۰/۲۱۷۸ میلی‌گرم برگرم وزن تازه بود که افزایش ۳۵درصدی میزان کاتالاز را نشان می‌دهد(جدول۵) . و دیگر اثرات متقابل تیمارهای مورد آزمایش بر این صفت معنی دار نبودند. تحت تنش، گیاهان در مکانیسم‌های دفاعی مانند چرخه زانتوفیل، چرخه گلوتاتیون–آسکوربات و تنفس نوری برای مقابله با اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن یا مهار تولید آنها درگیر می‌شوند. این چرخه‌ها با کمک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و آنتی‌اکسیدان هایی مانند آسکوربات، گلوتاتیون و کاروتنوئیدها تشکیل می‌شوند. در آزمایشی با افزایش غلظت سالیسیلیک‌اسید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز کاهش یافت، یعنی توانایی کمتری در تجزیه پراکسید هیدروژن مشاهده شد. کاهش فعالیت کاتالاز در شرایط مختلف می‌تواند به دلیل مهار سنتز این آنزیم یا تغییر در تجمع زیر واحدهای آن باشد(Movahedi Dehnavi et al,. 2017). همچنین Porabethaj et al,. (2012) در بررسی نقش سالیسیلیک‌اسید و باکتری محرک رشد در جو نشان دادند که استفاده از سالیسیلیک‌اسید و کودزیستی ، باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار شاهد شد. گزارش های متناقضی در مورد اثر سالیسیلیک‌اسید بر افزایش یا کاهش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز وجود دارد. نتایج نشان داد که تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نخود می‌شود(Shuriabi et al., 2012). گزارش‌هایی که کاهش آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را داشته‌اند، این گونه توجیه کرده‌اند که کاهش این آنزیم‌ها می‌تواند تولید انواع اکسیژن فعال را به‌دنبال داشته باشد که برای پاتوژن‌ها سمی است و از این طریق گیاه با آن مقابله می‌کند (Hadi et al., 2016; Sayedi et al., 2021). کودهای زیستی با افزایش تحرک مواد مغذی در ناحیه ریزوسفری باعث جذب مواد مغذی در گیاه می‌شوند (Gou et al., 2020). کودهای زیستی اسیدهای آلی، آنزیم‌ها و ترکیبات سیگنال دهنده و غیره را آزاد می‌کنند که در چرخه مواد مغذی مختلف شرکت می‌کنند و جمعیت میکروبی مفید را در محیط اطراف ریشه حفظ می‌کنند. بنابراین این احتمال وجود دارد که کودهای زیستی در شرایط تنش‌زای درون خاک به‌ویژه تنش‌های تغذیه‌ای و رطوبتی، موجبات کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز را فراهم نمایند(de Vives-Peris et al., 2020). کودهای زیستی با تأمین مداوم نیتروژن و فسفر در طی رشد و با متعادل نمودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌توانند میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را کاهش دهند (Amani et al., 2017). کاتالاز یکی از مهم ترین آنزیم‌هایی است که پراکسید هیدروژن را جمع آوری می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم باعث مقاومت گیاه در برابر شرایط تنش و در نتیجه افزایش عملکرد محصول می‌شود.کاتالاز به عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند و نقش مهمی در حذف و مهار پراکسیدهیدروژن تولید شده در پراکسی‌زوم ها و کاهش اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن دارد(Roussos et al., 2017).

سوپراکسید دیسموتاز

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول۳) آزمایش نشان داد تأثیر کاربرد سالیسیلیک‌اسید وکودهای زیستی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را افزایش دادند و در سطح یک درصد باعث اختلاف معنی‌داری بر این صفت شدند و اثر ساده رقم و اثرات متقابل و برهمکنش دوگانه و سه گانه اختلاف معنی‌داری را ایجاد نکردند. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها مصرف سالیسیلیک‌اسید یک میلی‌مولار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را افزایش داد، به طوریکه با استفاده از کاربرد یک میلی‌مولارسالیسیلیک‌اسید میزان ۵/۶درصد نسبت به تیمار عدم مصرف افزایش نشان می دهد. همچنین سطوح تیمار کودهای زیستی بیشترین تأثیر را در افزایش میزان این آنزیم از سطح ترکیب توام کودهای فسفات بارور۲ و پتابارور۲ با همدیگر به میزان(۳۰۳۳/. واحد بر میلی‌گرم پروتئین) داشت به نحوی که این تیمار ۹/۵ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به سطح بدون مصرف کودزیستی به میزان(۲۷۴۵/. واحد بر میلی‌گرم پروتئین) افزایش نشان داد.(Shuriabi et al., (2012 با بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی اکسیدان ارقام نخود در مواجهه با تنش خشکی اعلام کردند که کاربرد خارجی سالیسیلیک‌اسید با غلظت یک میلی‌مولار به همراه تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را در رقم MCC414 افزایش داد. یافته ها نشان می‌دهدکه سالیسیلیک‌اسید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و POX را افزایش می‌دهدکه به نوبه خود از گیاهان در برابر تولید ROS و آسیب غشایی محافظت می‌کند یا ممکن است بر سنتز سایر موادی که اثر محافظتی روی گیاهان دارند تأثیر بگذارد. علاوه بر این، سالیسیلیک اسید ممکن است به تنظیم عملکرد روزنه و وضعیت آب گیاه تحت تنش آبی کمک کند، که به نوبه خود فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مورد نیاز برای افزایش رشد و عملکرد را حفظ می‌کند(Kumar patel et al., 2012). Ervin et al., (2005) یک افزایش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را بعد از تیمار

گیاهان با سالیسیلیک‌اسید مشاهده کردند. آنها بیان داشتند که سالیسیلیک‌اسید با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی و انتقال پیام منجر به افزایش کارایی فتوسیستم II می‌شود. در آزمایش دیگری بر روی نخود نشان داده شد که در شرایط عدم تنش خشکی، غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید به طور معنی‌داری فعالیت پراکسیداز کمتری نسبت به شاهد داشت، اما تفاوت معنی‌داری در غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید در مقایسه با شاهد وجود نداشت(Shuriabi et al., 2012). گزارش‌هایی از اثرات مثبت کاربرد کودهای زیستی در شرایط کم آبی شامل آزوسپیریلوم، سودوموناس و آزتوباکتر بر عملکرد محصولاتی مانند جو، گندم، ذرت و سورگوم وجود دارد که عمدتاً به افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز مربوط می شود. این آنزیم‌ها به عنوان تثبیت کننده نیتروژن در شرایط کمبود آهن ، پتاسیم و نیترات آب باعث جذب ترکیباتی مانند NH4 را افزایش می‌دهند به طوری که در این شرایط وضعیت آب گیاه تا حدودی بهبود یافته و منجر به تولید فیتوهورمون‌هایی مانند ایندول استیک اسید می‌شود((Rudresh DL., 2005. Jiang et al., (2013) گزارش کردند که کودهای زیستی، به ویژه آزوسپیریلوم، با افزایش عرضه عناصر و بهبود شرایط خاک برای جذب عناصر غذایی، عملکرد را در شرایط کمبود آب افزایش می‌دهند. اما به دلیل کمبود آب در ریزوسفر، میزان رطوبت ریزوسفر کاهش می‌یابد، به دلیل تأثیر مثبت تدریجی کودهای زیستی بر رشد ریشه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، قطعاً تولید آنتی‌اکسیدان در سلول افزایش می‌یابد. گزارش‌های دیگر حاکی از آن است که ممانعت کود زیستی از ایجاد آسیب تجمعی در پاسخ به کمبود آب با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فرضیه ای است که نشان دهنده تأثیر مثبت این ترکیبات بر روی آنها در شرایط تنش است. این فرضیه با استفاده از آزوسپیریلوم موجود در جو مورد تایید قرار گرفته است (Fukami et al., 2018). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کودزیستی در سطح ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت داشت. تحت شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر کودهای زیستی افزایش یافت. به طوری که آزوسپیریلوم لیپوفروم به ترتیب سبب افزایش ۱۶/۷ و سودوموناس× آزوسپیریلوم سبب افزایش ۱۸/۲ درصدی سوپراکسید دیسموتاز در تیمار آبیاری در شرایط آبیاری در۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد شدند(Dadnia,. 2018).

عملکرد

نتایج تجزیه نشان داد که اثر ساده، سالیسیلیک‌اسید، کودزیستی و رقم در سطح یک درصد و برهم‌کنش دوگانه سالیسلیک اسید و کودزیستی در سطح پنج درصد بر عملکرد دانه تأثیر گذاشت (جدول۳). مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه آزمایش (جدول۴) نشان داد بالاترین عملکرد دانه (۱۲۹۳/۹۱کیلوگرم در هکتار) با کاربرد اسیدسالیسیلیک یک میلی‌مولار و مصرف توام کودزیستی فسفات بارور۲ و پتابارور۲ و کمترین عملکرد دانه (۷۸۸/۱۱ کیلوگرم در هکتار) در عدم کاربرد اسید سالیسیلیک و عدم کاربرد کودزیستی بدست آمد که با حداکثر عملکرد دانه به دست آمده ۶۴ درصد اختلاف داشت. انچه که از نتایج مشهود است این است که کاربرد توام سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بیشترین عملکرد را نسبت به مصرف جداگانه تیمارهای اعمال شده را دارا بود. دستاوردهای برخی دیگر از بررسی ها با نتایج این مطالعه منطبق بود. به نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش عملکرد در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک‌اسید، احتمالا ناشی از تاثیر سالیسیلیک‌اسید بر تثبیت دی اکسید کربن باشد (Norouzi and Sajedi, 2019) . گزارش شده است که محلول‌پاشی با سالیسیلیک‌اسید از طریق میزان کلروفیل موجب افزایش ۱۳درصدی در عملکرد کلزا شد(Keshavarz and Modarre, 2014) . Arshadi و همکاران (2020) با بررسی تاثیر باکتری‌های همزیستی بر نخود اعلام کردند به طور کلی تقریباً عملکرد کلیه ژنوتیپ ها در تیمار مصرف تلفیقی ریزوبیوم و میکوریزا بیشتر از عملکردهای آنها در تیمارهای مصرف ریزوبیوم (به تنهایی) و مصرف تلفیقی ریزوبیوم و شبه میکوریزای داخلی بود. این نتایج، بازگوکننده موفقیت همزیستی سه گانه گیاه نخود، ریزوبیوم و میکوریزا و نیز نقش بهتر میکوریزا در تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و توزیع مناسب‌تر آن‌ها بین اندام‌های فتوسنتزی و مخازن نخود در مقایسه با دو تیمار دیگر می‌باشند. که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. Qalavand و همکاران (2012) به منظور ارزیابی تأثیر کودهای مختلف آلی و زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد نخود نشان‌دادند که کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری بر عملکرد و اجزاء عملکرد دانه داشت. میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات یکی از کودهای زیستی هستند که با افزایش حلالیت فسفر در فسفات‌های معدنی کم محلول مانند سنگ فسفات باعث بهبود رشد گیاه می‌شوند. بسیاری از آنها نیز با تولید آنزیم فسفاتاز، فسفر را از ترکیبات آزاد می‌کنند (Pezeshkpour et al, 2014).

نتیجه‌گیری

می توان اظهار داشت که استفاده همزمان از سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی باعث افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیکی ارقام نخود

می‌شوند و از نظر زیست محیطی نیز بسیار مفید هستند. در این پژوهش، کاربرد محلول یک میلی‌مولار سالیسیلک اسید و مصرف کودهای زیستی بطور جداگانه و مصرف توام تولید انواع کلروفیل، پرولین و پروتئین‌های محلول را افزایش دادند، اما تولید کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز کاهش یافت. انچه که از نتایج مشهود است این است که کاربرد توام سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بیشترین عملکرد را نسبت به مصرف جداگانه تیمارهای اعمال شده را دارا بود.

"هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Abdshah, H. and Kazemian, A. (2019). Agricultural statistics for 1397-1998, Information and Communication Technology Center of the Ministry of Agricultural Jihad, Volume 1, 15-25. (In Persian).

Abou-Aly, H. E., and M.A. Mady. (2009). Complemented effect of humic acid and biofertilizers on wheat (*Triticum aestivum L.*) productivity. Annals of Agricultural Sciences. 47(1): 1-12.

Amani, N. Sohrabi, Y. And Heydari, Gh. (2017). Yield and some physiological characteristics of maize using biofertilizers and chemical fertilizers under drought. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production. Volume 27. Number 2. (In Persian).

Arnon, D. J. (1956). *The chlorophyll absorption spectrum and quantitative determination. Biochemical and Biophysical Acta, 20: 449-461.*

Ansari, M.F., Tipre, D.R. and S.R. Dave, a. (2015). Efficiency evaluation of commercial liquid bio-fertilizers for growth of (*Cicer aeritinum*)chickpea input and field study. Journal of Agriculture Science and Technology. 4(1): 17-24.

Arshadi, M.J., Parsa, M., Lekzian, A. and Kafi, M. (2020). The effect of coexistence of arbuscular mycorrhiza and internal mycorrhiza on grain yield and some physiological characteristics of chickpea (Cicer arietinum) genotypes. Iranian legumes research. Year (Volume) 12 issues, 2 second half. (In Persian).

Babaei, Kh., Seyed Sharifi, R. and Pirzad, A. R. (2019). Effect of biological fertilizers and iron and zinc nano oxides on quantum yield and wheat grain filling process under soil salinity. Agricultural knowledge and sustainable production (agricultural knowledge). Volume, Number 1; From page 73 to page 94. (In Persian).

Baghebani Arani, A., Secondary Teacher, S.A. M., Mashhadi Akbar Bojar, M., Adavi, Z., and Dehghanzadeh Jazi, H. (2019). Effect of Dehydration Stress on Chlorophyll Fluorescence Indices, Photosynthetic Pigments, Trigonline and Fenugreek Seed Yield in Reaction to Zeolite and Nitrogen. Journal of New Findings in Life Sciences. Volume 1, Number 2, Pages 229 to 240.(In Persian).

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

Brito, C., Dinis, L.T., Ferreira, H., Coutinho, J., Moutinho-Pereira, J., Correia, C.M., (2019). Salicylic acid increases drought adaptability of young olive trees by changes in redox status and ionome. Plant Physiol. Biochem. 141, 315–324.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1995). Assay of catalase and peroxidase, In: Colowick, S. P., and N. D. Kaplan (eds.), *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, 2, 764–791.

Chavoshi, S. Normohammadi, GH. Madani, H. Heidari Sharifabad, H. And Alawi Fadhil, A. (2019). Evaluation of the effect of biofertilizers on plant growth stimulants on agronomic traits and physiological characteristics of red bean (Phaseolus vulgaris L) genotypes. Scientific Journal of Crop Physiology, Islamic Azad University, Ahvaz Branch, Volume 11, Number 41, Spring 2017, Pages 79-63. (In Persian).

Dadnia, M. (2018). The relationship between water deficit stress and biofertilizer on the activity of some antioxidant enzymes and their role in changes in barley yield (Hordeum vulgare). Scientific Journal of Plant Ecophysiology. Tenth year, number thirty-three. (In Persian).

Davoodi, A., Zeinalzadeh Tabrizi, H., Shirani Rad, A. (2019). The effect of selenium foliar application on some quantitative and qualitative characteristics of rapeseed cultivars under temperature stress conditions at the end of the season. Eleventh year. No. 32. 87 - 74. (In Persian).

de Vives-Peris, Ollas C., Gomez-Cadenas, A., Perez-Clemente, R.M., (2020). Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. Plant Cell Rep. 39 (1), 3–17.

Demin, I. N., Deryabin, A. N., Sinkevich, M. S. and Trunova, T. I. (2008) Insertion of the cyanobacterial deSa gene coding for Δ12-acyl-lipid deSaturase increases potato plant resistance to oxidative stress induced by

hypothermia. Russian Journal of Plant Physiology 55: 710-720.
EL-Tayeb, M.A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation, v.45, p.215-224.
Ervin, E.H., Zhang, X. and Schmidt, R.E. (2005). Exogenous Salicylic acid enhances_post-transplant success of heated Kentucky bluegrass and tall fescue sod. Crop Science. 45(1):240–244.
Fukami, J., Paula Cerezini, P., and Hungria, M. (2018). Azospirillum benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. AMB Expr (2018) 8:73
Gou, J.Y., Suo, S.Z., Shao, K.Z., Zhao, O., Yao, D., Li, H.P., Zhang, J.L., Rensing, C., (2020). Biofertilizers with beneficial rhizobacteria improved plant growth and yield in chili (*Capsicum annuum L.*). World J. Microbiol. Biotechnol. 36, 86.
Hadi, M. R. Jafari Nia, M. Balali, Gh. R. (2016). The effect of salicylic acid on the activity of peroxidase, catalase and polyphenol oxidase enzymes in potato plant infected with Rhizoctonia solani. Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology). Volume 29, Number 2. (In Persian)
Heshmati, S. Amini Dehqi, M. And Fathi Amirkhiz, K. (2016). Effect of chemical and biological phosphorus fertilizer on the activity of antioxidant enzymes and some biochemical traits of spring safflower (*Carthamus tinctorius L.*) under water stress. Journal of production and processing of agricultural and horticultural products. The sixth year. Number 19 (In Persian).
Janda T, Szalai G, Tari I, et al. (2000). hydroponic treatment with Salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (Zea mays L.) plants. Planta 1999;208: 175-80.
Jiang W., Zhou H., Bi H., Fromm M., Yang B., Weeks D.P. (2013). Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in Arabidopsis, tobacco, sorghum, and rice. Nucleic Acids Research, 41 (20): e188 12 páginas.
Keshavarz, H., and Modarres Sanavy, S.A.M. (2014). Effect of salicylic acid on chlorophyll, some growth characteristics, and yield of two canola varieties. Journal Crop Production 7(4): 167-178. (In Persian).
Kumar patel, P., A. Hemantaranjan., AND B.K. Sarma. (2012). Effect of Salicylic acid on growth and metabolism of chickpea under drought stress. Indian J. Plant Physiol., Vol. 17, No. 2, (N.S.) pp. 151-157.
Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment, and stress combination. Trends in Plant Science. 11: 15–19.
Momeni, F., Abdali Mashhadi, A., Siadat, S. A., Pakdaman Sardrood, B., Mokhtar Ghobadi, M. (2020). Effect of application of biofertilizers and salicylic acid on biochemical characteristics and grain elements of chickpea cultivars (Cicer arietinum L.) under dryland conditions of Kermanshah. Scientific Journal of Crop Physiology, Islamic Azad University, Ahvaz Branch, year, 12 issues, 47. Pages 25- 5. (In Persian)
Movahedi Dehnavi, M., Niknam, M., Behzadi, Y., Mohtashami, R., and Bagheri, R. (2017). Comparison of physiological responses of flax (Linum usitatissimum L.) to drought and salinity stress and foliar application with salicylic acid. Iranian Journal of Plant Biology, Year 9, Issue 33. Pages 62 - 39. (In Persian)
Noorzad, Sh., Ahmadian, A. And Moghaddam, m. (2015). Evaluation of proline content, chlorophyll index, carbohydrate and nutrient uptake in coriander under drought stress and fertilizer treatment. Iranian Journal of Crop Research. 13 (1): 139-131. (In Persian)
Padash, A., Ghanbari, A. And Asgharipour, M. R. (2016). The effect of salicylic acid on the concentration of some end elements, proteins, and antioxidant enzymes of basil under lead stress. Plant Biology of Iran. 8 (27:) 32-17. (In Persian).
Pakar, N., Pirasteh -Anosheh, H. and Emam, Y. (2016). Barley growth, yield, antioxidant enzymes, and ion accumulation as affected by PGRs under salinity stress conditions. Journal of Plant Nutrition. 39(10): 1372 -1379.
Pezeshkpour, P., ardakani, M.R. Pakenjad, F. vazan, S. (2014). Effect of application of vermicompost, mycorrhizal symbiosis, and biphosphate solvent on physiological traits and yield of chickpea. Journal of Crop Physiology. Volume 6, number 53. (in Persian).
Pirasteh-Anosheh, H., Ranjbar, G., Pakniyat, H. and Emam, Y. (2016). Physiological Mechanisms of Salt Stress Tolerance in Plants; an Overview. p. 141-160. In: Azooz, M. M. and P. Ahmad (Eds.). Plant Environment Interaction: Responses and Approaches to Mitigate Stress. John Wiley & Sons, London.
Porabethaj, M. Habibi, d. Pakenjad, F. Davoodifar, M. And Farahani Pod, p. (2012). The effect of growth-promoting bacteria and foliar application of silicic acid and amino acids on the activity of biochemical biomarkers in drought stress conditions in barley (Hordeum vulgar L.). Journal of Agriculture and Plant Breeding. Volume 8, Number 3, pp. 138 - 127. (In Persian)
Qalavand, A., Mohammadi, Kh., Agha Alikhani, M., Sohrabi, Y. (2012). The effect of different organic and

biological fertilizers on yield and yield components of chickpea (Cicer arietinum L.) Journal of Agriculture. Volume 94: 49 - 41. (in Persian).

Ram Rao, D.M., Kodandaramaiha, J., Reddy, M.P., Katiyar R.S. and Rahmathulla, V.K. (2007). Effect of VAM fungi and bacterial biofertilizers on mulberry leaf quality and silk worn cocoon characters under semi-arid conditions. Caspian Journal of Environmental Science. 5(2): 111-117.

Rezaei Alulu, A. Khairy, A. Sany khani, M. Arghavany, M. (2020). The effect of foliar application of salicylic acid, glycine betaine, and gamma-aminobutyric acid on the antioxidant activity of Carla under dehydration stress. Scientific Journal of Plant Ecophysiology, Twelfth Year, No. 40. (In Persian).

Roussos, P. A., Gasparatos, D., Kechrologou, K., Katsenos, P. and Bouchagier, P. (2017). Impact of organic fertilization on soil properties, plant physiology, and yield in two newly planted olive (Olea europaea L.) cultivars under Mediterranean conditions. Scientia Horticulturae, 220: 11- 19.

Rudresh DL., MK. Shivaprakash., and RD. PraSad, (2005). Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium, and Trichoderma spp. on growth, nutrient uptake, and yield of chickpea (Cicer aritenium L.). Applied Soil Ecology 28: 139-146.

Sabaghpour, S.H. (2015). Strategic Framework for Food Legume Research. Chap & Entesharat Organization, 412 pp (In Persian).

Sandhya, V., S. K. Z. Ali, M. Grover, G. Reddy and B. Venkateswarlu. (2010). Effect of plant growth-promoting Pseudomonas spp. on compatible solutes, antioxidant status, and plant growth of maize under drought stress. Plant Growth Regulation 62:21-30.

Saydi, Z., Abbasi, N.A. and Zare, M.J. (2021). The effect of nitroxin biofertilizer on physiological characteristics of four black seed ecotypes (Nigella sativa L.) under drought stress. Journal of Soil-Plant Relations. Year 12. Issue 2 Pages 32 - 19. (In Persian).

Seadatmand, M. And Publishing, Sh. (2012). Effect of silicon pretreatment time on salinity tolerance in Iranian borage. Greenhouse science and technology. third year. Number twelve. 56 - 45. (In Persian).

Shinde, M. Khade, Sh. (2019) .Effect of Biofertilizers on Chlorophyll contents of Maize (Zea mays L.) Variety Eco-92. International Journal of Life Sciences Research. Vol. 7, Issue 2, pp: (304-307), Month: April - June 2019,

Shuriabi, M., Ganjali, A. Abrisham chi, p. (2012). The effect of salicylic acid on the activity of enzymes and antioxidant compounds of chickpea cultivars (Cicer arietinum L) in the face of drought stress. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences. 5 (1): 54 - 51. (In Persian).

Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A., Abbassi, F. (2011). The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of Satureja hortensis. Afr. J. Agron. 6 798–807.