Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Crop Production

Print ISSN: 2008- 739x
Online ISSN: 2008- 7403

Iranian Society of Agronomy and Plant Breeding Sciences

The effect of mycorrhizal fungi and phosphorus solubilizing bacteria on physiological traits and grain yield of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in different irrigation regimes

Roghayeh Tanhaei[1], Alireza Yadavi[2*], Mohsen Mvahhedi Dehnavi[3], Amin Salehi[4], Somayeh Rafiee[5], Mohammad Hamidian[6]

[1] M.Sc Graduated in Agronomy, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
[2]Associate Professor, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran, Email: Yadavi@yu.ac.ir
[3]Associate Professor, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran, Email: movahhedi54@yahoo.com
[4]Associate Professor, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran, Email: aminsalehi@yu.ac.ir
[5] Ph.D Student in Crop Physiology, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran, Email: s.r_1363@yahoo.com
[6] B.Sc Student, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran, Email: arashhamidian9@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2021/11/06
Revised: 2022/09/19
Accepted: 2022/10/29

Keywords:
Drought stress
Malondialdehyde
Mycorrhiza
Prolin
Yield

ABSTRACT

Background and objectives: Beans are one of the most important food sources in many parts of the world due to their high protein content. According to geographical conditions, drought stress in Iran is one of the most important threats to agricultural products. Disruption of photosynthesis, destruction of cell structures, reduction of stomatal conductance and plant growth are among the effects of drought stress. Today, the use of biofertilizers based on soil microorganisms is one of the main goals of sustainable agriculture to improve plant condition. In addition to improving soil structure, biofertilizers improve plant growth and yield under stress conditions by increasing root morphology, increasing nutrient uptake and increasing antioxidant power. Due to the negative effect of drought stress on crop yield, an experiment was conducted to investigate the effect of biofertilizers on physiological characteristics and grain yield of red beans in different irrigation regimes.

Materials and methods: This experiment was performed as a split plot base on randomized complete block design with three replications in the research farm of Yasouj University in 2016. Experimental treatments include irrigation at three levels (normal irrigation, irrigation cut-off at the beginning of flowering to the beginning of podding and irrigation cut-off at the beginning of podding to maturity) and biofertilizer at four levels (control or no application), Biofertilizer (application of mycorrhiza fungus, phosphorus solubilizing bacteria and combined application of mycorrhizal fungus and phosphorus solubilizing bacteria). The red bean seed (*phaseolus vulgaris*) used in this experiment was a Derakhshan cultivar and the mycorrhizal fungus used was *Funneliformis mosseae*. Phosphorus solubilizing bacteria (Phosphate barvar2) base on *Pseudomonas putida* Strain P13 and *Pantoea*

agglomerans Strain P5 were used as seed inoculation at planting time. Sampling was done randomly at the beginning of podding stage and in the middle of grain filling with respect to the marginal effect in each block in order to measure percentage of electrolyte leakage, leaf relative water content (RWC), content of photosynthetic pigments, soluble sugars, proline and malondialdehyde (MDA).

Results: The results showed that different levels of irrigation were significant for traits such as RWC, electrolyte leakage percentage, MDA content, leaf proline content, leaf protein content, soluble sugar concentration, total chlorophyll content and carotenoids. The effect of biofertilizer was significant on all traits except the RWC. It should be noted that the interaction of irrigation and biofertilizer was not significant on any of the studied physiological traits except for MDA. Irrigation levels and application of biofertilizers also had a significant effect on grain yield, the combination of both biofertilizers was very effective on grain yield, especially in stress conditions. The grain yield was more than control in the case of irrigation cut-off in the flowering stage and in the case of irrigation cut-off in the stage of podding to maturity by 45 and 38%, respectively.

Conclusion: The results of this experiment showed that drought stress in the form of irrigation cut-off reduced the concentration of photosynthetic pigments, increased the levels of physiological degradation and thus reduced the grain yield of red beans. In conditions of drought stress application of mycorrhiza biofertilizers and phosphorus solubilizing bacteria, by reducing the damage caused by drought stress, prevented the reduction of bean yield. Also, the application of biofertilizers in normal conditions significantly increased the yield of red beans.

Cite this article: Tanhaei, R., Yadavi, A.R., Mvahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., Rafiee, S., Hamidian, M. 2022. The effect of mycorrhizal fungi and phosphorus solubilizing bacteria on physiological traits and grain yield of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in different irrigation regimes. *Crop Production Journal*, 15 (4), 39-62.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejcp.2023.19247.2438
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تولید گیاهان زراعی
شاپا چاپی: ۲۰۰۸-۷۳۹x
شاپا الکترونیکی: ۲۰۰۸-۷۴۰۳
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران

تاثیر قارچ مایکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفر بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) در رژیم‌های مختلف آبیاری

رقیه تنهایی[۱]، علیرضا یدوی[۲*]، محسن موحدی‌دهنوی[۳]، امین صالحی[۴]، سمیه رفیعی[۵]، محمد حمیدیان[۶]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، ایمیل: roghayeh.tanhaie@gmail.com
[۲]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، رایانامه: yadavi@yu.ac.ir
[۳]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، رایانامه: movahhedi54@yahoo.com
[۴]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، رایانامه: aminsalehi@yu.ac.ir
[۵]دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، رایانامه: s.r_1363@yahoo.com
[۶]دانشجوی کارشناسی ژنتیک و تولیدات گیاهی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، رایانامه: arashhamidian9@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۷

واژه‌های کلیدی:
پرولین
تنش خشکی
عملکرد
مالون‌دی‌آلدهید
مایکوریزا

چکیده

سابقه و هدف: لوبیا یکی از مهم‌ترین منابع غذایی پروتئینی در بسیاری از نقاط جهان است. با توجه به شرایط ایران، تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل تهدید کننده محصولات کشاورزی به‌شمار می‌رود. اختلال در فتوسنتز، تخریب ساختارهای سلولی، کاهش هدایت روزنه‌ای و رشد گیاه از جمله اثرات تنش خشکی است. امروزه استفاده از کودهای زیستی مبتنی بر ریز جانداران خاک‌زی علاوه بر بهبود ساختمان خاک، با تغییرات مورفولوژیکی ریشه، افزایش جذب عناصر و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی موجب بهبود رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش می‌شود. با توجه تاثیر منفی تنش خشکی بر عملکرد گیاهان زراعی، آزمایشی جهت بررسی تاثیر کودهای زیستی بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه‌ی لوبیا قرمز در رژیم‌های مختلف آبیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل آبیاری در سه سطح (آبیاری معمول، قطع آبیاری در مرحله‌ی شروع گلدهی تا شروع غلاف‌دهی، قطع آبیاری در مرحله‌ی شروع غلاف‌دهی تا رسیدگی) و کود زیستی در چهار سطح (شاهد یا عدم کاربرد کود زیستی)، کاربرد قارچ مایکوریزا، باکتری حل کننده فسفر و کاربرد توأم قارچ مایکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفر) بود. بذر مورد استفاده در آزمایش لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris*)، رقم درخشان بود و قارچ مایکوریزای به کار رفته *Funneliformis mosseae* بود. باکتری حل‌کننده فسفر (فسفات بارور ۲) بر پایه *Pseudomonas putida* Strain P13 و *Pantoea agglomerans* Strain P5 ، به‌صورت بذرمال در زمان کاشت استفاده شد. نمونه‌گیری در مرحله شروع غلاف‌دهی و اواسط پر شدن دانه به صورت تصادفی با رعایت اثر حاشیه‌ای در هر بلوک به منظور اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت، محتوای آب نسبی برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، پرولین و

مالون‌دی‌آلدهید برگ انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که سطوح مختلف آبیاری بر صفاتی چون محتوای آب نسبی برگ، درصد نشت الکترولیت، میزان مالون دی آلدهید، میزان پرولین برگ، پروتئین برگ، غلظت قندهای محلول، محتوای کلروفیل کل و کارتنوئید معنی‌دار بود. کاربرد کود زیستی نیز بر تمامی صفات به‌جز میزان محتوای آب نسبی برگ معنی‌دار شد. برهم‌کنش آبیاری و کود زیستی به‌جز میزان مالون دی آلدهید، بر هیچ‌کدام از صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه معنی‌دار نبود. سطوح آبیاری و کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد دانه نیز تاثیر معنی‌داری داشت، تلفیق کاربرد هر دو کود زیستی بر عملکرد گیاه مخصوصا در شرایط تنش بسیار موثر بود به گونه‌ای که عملکرد دانه در این تیمار، در شرایط قطع آبیاری در مرحله‌ی گلدهی تا غلاف‌دهی ٤٥ درصد و در شرایط قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی ۳۸ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این آزمایش نشان داد که تنش خشکی به صورت قطع آبیاری، باعث کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش سطوح تخریب فیزیولوژیک و در نتیجه کاهش عملکرد دانه‌ی لوبیا قرمز شد. در شرایط تنش خشکی (قطع آبیاری) کاربرد کودهای زیستی مایکوریزا و باکتری حل کننده فسفر، با کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی موجب جلوگیری از کاهش عملکرد لوبیا شد. همچنین، کاربرد کودهای زیستی در شرایط بدون تنش باعث افزایش قابل توجهی در عملکرد لوبیا قرمز شد.

استناد: تنهایی، ر.، یدوی، ع.، موحدی‌دهنوی، م.، صالحی، ا.، رفیعی، س.، حمیدیان، م. (۱٤۰۱). تاثیر قارچ مایکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفر بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) در رژیم‌های مختلف آبیاری. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱۵ (٤)، ٦۲-۳۹.

DOI: 10.22069/ejcp.2023.19247.2438

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

مقدار پروتئین دانه در لوبیا تقریبا دو تا سه برابر غلات است و به دلیل سطح بالای اسید آمینه‌هایی مانند لایسین از آن به عنوان مکمل پروتئین غلات در رژیم غذایی می‌توان استفاده کرد (۱، ۲). در ایران نیز با توجه به متوسط بارندگی سالانه حدودا کم‌تر از یک سوم میانگین جهانی و اقلیمی خشک و نیمه خشک آن (۳)، تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد گیاهان است (٤). در تنش خشکی به ساختارهای لیپیدی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به دلیل اختلال در سیستم انتقال الکترون و تولید گونه‌های اکسیژن فعال آسیب وارد می‌شود (۵). گونه‌های اکسیژن فعال موجب افزایش پراکسیداسیون لیپید غشایی در نتیجه تولید مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش خشکی می‌شوند. تنش خشکی موجب خسارت به سیستم فتوسنتزی و سطح برگ در نتیجه، کاهش رشد، عملکرد و وزن دانه در لوبیا می‌شود (٦).

کودهای حاوی باکتری حل‌کننده فسفات از طریق سازوکارهایی نظیر بهبود سلامت و ساختمان خاک، افزایش دسترسی گیاهان به آب و مواد غذایی و تغییرات در هورمون‌های گیاه باعث بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می‌شوند (۷، ۸، ۹). این باکتری‌ها با تولید آنزیم فسفاتاز، اسیدهای آلی و سایدوفر موجب افزایش جذب عناصر غذایی، در نتیجه بهبود رشد گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شوند (۱۰، ۱۱). استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر به دلیل بهبود صفات فیزیولوژیک نخود سبز، باعث جلوگیری از کاهش عملکرد این گیاه تحت تنش خشکی شد (۱۲). قارچ *Funneliformis mosseae* یکی از انواع کودهای زیستی بوده که از طریق افزایش جذب عناصر غذایی (مانند فسفر و نیتروژن)، افزایش جذب آب، افزایش مقاومت در برابر تنش‌های غیرزنده (خشکی، شوری و ...) سبب بهبود رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزبان در سامانه‌های کشاورزی پایدار می‌شوند (۱۳). یافته‌های قیصری زردک و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که تلقیح قارچ مایکوریزا به دلیل فراهمی فسفر قابل جذب برای گیاه زیره، باعث افزایش ماده‌ی خشک و عملکرد دانه تحت تنش خشکی شد (١٤). در بررسی‌ای که بر روی آفتابگردان انجام شد، دیده شد که تنش خشکی باعث کاهش ۱۵/۰۵ درصدی عملکرد دانه‌ی آفتابگردان شد، اما کاربرد قارچ مایکوریزا آرباسکولار باعث افزایش عملکرد دانه نسبت به شاهد شد (۱۵). اما یکی از مهم‌ترین دیدگاه‌های کشاورزی پایدار استفاده از روابط بین موجودات زنده به منظور بهینه‌سازی سیستم تولید است. با توجه به پویایی ریزوسفر، بین میکروارگانیسم‌های خاک‌زی علاوه بر تعاملات با گیاه، روابطی به‌صورت قارچ- باکتری نیز صورت می‌گیرد که در نهایت با توجه به هم‌افزایی این دو عامل بر یکدیگر ممکن است باعث تحقق پتانسیل بیش‌تری برای سامانه زراعی شود (١٦). گزارش شده است تلفیق کاربرد قارچ مایکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفر در بهبود رشد گیاه و کاهش خسارت ناشی از تنش به صورت موفق عمل می‌کنند (۱۷). در نتیجه با توجه اهمیت تنش خشکی در ایران و سطح کشت بیش از ۱۲۰۰۰۰ هکتار این گیاه در استان های نظیر فارس، لرستان و مرکزی (۱۸)، کاربرد ریزجانداران خاک‌زی نظیر باکتری حل‌کننده فسفات و قارچ مایکوریزا به منظور کاهش خسارت ناشی از تنش امری ضروری است. پس این پژوهش به منظور تعیین روش بهینه کاربرد این عوامل (به صورت تلفیقی یا مجزا) بر صفات فیزیولوژیک برای تحقق حداکثر پتانسیل عملکرد گیاه لوبیا قرمز در رژیم‌های مختلف آبیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹٤ به‌صورت کرت‌های خرد شده، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه یاسوج با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۳ دقیقه‌ی شرقی، عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۳۸ دقیقه‌ی شمالی و ارتفاع ۱۸۷۰ متری از سطح دریا اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل آبیاری، در سه سطح (آبیاری کامل، قطع آبیاری در مرحله‌ی شروع گلدهی تا شروع غلاف‌دهی، قطع آبیاری در مرحله‌ی شروع غلاف‌دهی تا رسیدگی) و کود زیستی در چهار سطح (شاهد (عدم کوددهی)، کاربرد قارچ مایکوریزا ، باکتری حل‌کننده فسفر و کاربرد توأم قارچ مایکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفر) بود. بذر مورد استفاده در آزمایش، لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.)، رقم درخشان بود. این رقم دارای فرم بوته ایستاده و رشد محدود (تیپ ۱)، متوسط ارتفاع ٤۰-۳۵ سانتی‌متر، دوره رشد و نمو ۱۰۰-۹۵ روز، وزن صد دانه ٤۷-٤۵ گرم می‌باشد و نسبت به بیماری ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) و ویروس موزائیک زرد لوبیا (BYMV) مقاوم و نسبت به ویروس موزائیک خیار (CMV) نیمه حساس است (۱۹).

کود قارچ مایکوریزا آربوسکولار حاوی هیف‌ها، وزیکول‌ها و آربوسکول‌های قارچ مایکوریزا گونه‌ی *Funneliformis mosseae* (تهیه شده از کلینیک گیاهپزشکی ارگانیک شهرستان اسدآباد همدان) به میزان ۸۰ کیلوگرم در هکتار (حاوی حدود ۳۳۳ اسپور در هر گرم نمونه کود مایکوریزا که توسط لام هموسیتومتر تعیین گشت) و کود زیستی فسفات بارور۲ (تهیه شده از شرکت زیست فناور سبز) به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار مورد استفاده قرار گرفت. کود زیستی فسفات بارور۲ حاوی 10^{7} تا 10^{8} باکتری حل‌کننده فسفات (پایه *Pseudomonas putida* Strain P13 و *Pantoea agglomerans* Strain P5) در هر گرم از محصول می‌باشد.

کود فسفات بارور۲ به صورت بذرمال استفاده گردید. بدین منظور ابتدا یک بسته (۱۰۰ گرمی) کود زیستی فسفات بارور ۲ در دو لیتر آب حل کرده و بعد از حل شدن آن، صاف گردید. محلول صاف شده و روی بذرها اسپری کرده و بذرها با مایع اسپری شده به خوبی مخلوط شد و در سایه قرار داده شدند تا خشک گردند. قارچ مایکوریزا به صورت نواری در تماس مستقیم با بذر و در زیر بذر استفاده گردید و سپس عملیات کاشت انجام گرفت.

به منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری شد. در جدول ۱ نتایج تجزیه خاک آورده شده است. عملیات آماده‌سازی بستر خاک در اردیبهشت ماه با استفاده از ادوات کشاورزی انجام گرفت. جوی و پشته‌های مورد نظر توسط فاروئر آماده شد. هر کرت شامل ٤ خط کشت به طول ۵ متر و فاصله‌ی ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله‌ی بوته‌ها روی ردیف ۵ سانتی‌متر (٤۰ بوته در متر مربع) بود. با توجه به آزمون خاک، کود سوپرفسفات تریپل به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود اوره به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در دو مرحله، در زمان کاشت و مرحله‌ی شروع گلدهی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک با رعایت اثر حاشیه‌ای از برگ‌های گیاهان دو ردیف وسط در هر بلوک در دو مرحله‌ی شروع غلاف‌دهی و اواسط پر شدن دانه انجام شد.

جدول ۱- برخی صفات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه.

Table 1- Some soil physical and chemical properties of the plot.

عمق نمونه (سانتی‌متر) Depth (cm)	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس/ متر) Ec ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته PH	کربن آلی (درصد) Organic C (%)	فسفر قابل جذب (بخش در میلیون) Available P (ppm)	پتاسیم قابل جذب (بخش در میلیون) Available K (ppm)	نیتروژن کل (درصد) Total Nitrogen (%)	بافت خاک Texture
0-30	0.4	7.8	0.5	7	181	0.05	لوم رسی Loamy-Clay

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC): به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، قطعاتی تقریبا هم‌اندازه نمونه تازه برگ توزین گردید. سپس وزن آماس نمونه‌ها پس قرار گرفتن در ظرف حاوی آب مقطر در تاریکی به مدت ٢٤ ساعت و وزن خشک آن بعد از قرار گرفتند در آون (٤٨ ساعت در دمای ٧٥ سانتی‌گراد) اندازه گرفته شد. در نهایت مقدار محتوای آب نسبی برگ‌ها بر اساس رابطه ١ محاسبه شد (١٢).

رابطه ١: $RWC(\%) = \frac{FW-DW}{TW-Dw} \times 100$

در این رابطه RWC= محتوای آب نسبی (درصد)، FW= وزن تر، DW= وزن خشک و TW= وزن آماس بود.

اندازه‌گیری محتوای مالوندی‌آلدهید برگ: نمونه برگ در TCA (تری‌کلرواستیک‌اسید) عصاره‌گیری و پس از سانتریفیوژ یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون جدا شده و به آن TBA (تیوباربی‌توریک اسید)، محلول در TCA ٢٠ درصد اضافه گشت. محلول سنجش را ٣٠ دقیقه در بن‌ماری با دمای ٩٥ درجه سانتی‌گراد و بعد از آن ١٥ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. میزان مالوندی‌آلدهید بر اساس جذب ماده رویی در طول ٥٣٢ نانومتر و ٦٠٠ نانومتر محاسبه شد (٢٠).

اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ: به عصاره الکلی برگ، آب دوبار تقطیر، نین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال اضافه و سپس نمونه‌ها داخل حمام آب جوش قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه‌ها در دمای محیط خنک گردیدند. بعد از آن به هر نمونه بنزن اضافه شد تا پرولین وارد فاز بنزن شود. سپس بعد از استراحت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ٥١٥ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. سپس بر اساس استاندارد ساخته شده با L-Proline غلظت پرولین محاسبه گردید (٢١).

اندازه‌گیری محتوای قندهای محلول برگ: بدین صورت به عصاره الکلی برگ آنترون تازه تهیه شده اضافه گردید. سپس بعد از قرار گرفتن در بن‌ماری به نمونه‌ها به منظور خنک شدن استراحت داده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ٦٢٥ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و غلظت قند محلول برگ بر اساس جذب استانداردهای گلوکز محاسبه گردید (٢٢).

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ: نمونه برگ تازه همراه با استون ٨٠ درصد و پودر کربنات کلسیم در یک هاون چینی در دمای پایین و شدت نور کم همگن گردید. مخلوط حاصل پس از سانتریفیوژ با محلول استون ٨٠ درصد رقیق گشت و غلظت کلروفیل (٢٣) و کارتنوئید (٢٤) بر اساس جذب مخلوط سنجش در در طول موج‌های ٦٦٣، ٦٤٥ و ٤٧٠ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda 210 EZ) و رابطه ٢ محاسبه شد.

رابطه ۲:

Chla (mg/ml) = (۰/.۰۱۲۷× OD ٦٦۳) – (۰/۰۰۲٦۹× OD٦٤٥)

Chlb (mg/ml) = (۰/۰۲۲۹× OD٦٤٥) – (۰/۰۰٤٦۸× OD ٦٦۳)

Chla + Chlb (mg/ml) = (۰/۰۲۰۲ × OD٦٤٥) + (۰/۰۰۸۰۲ × OD ٦٦۳)

در این روابط OD663: میزان جذب نور در طول موج ٦٦۳ نانومتر و OD645: میزان جذب نور در طول موج ٦٤٥ نانومتر بود.

اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول برگ: نمونه برگ در محیط خنک با بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ٦/۸ هموژن شد و پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، به فاز بالایی عصاره (سوپرناتانت) به‌دست آمده محلول برادفورد اضافه کرده و جذب نمونه در طول موج ۵۹۵ با دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت گردید (۲۵).

برای اندازه‌گیری عملکرد دانه نیز از دو خط وسط هر کرت با رعایت فاصله حاشیه مساحتی معادل ۳ متر مربع برداشت و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای آب نسبی برگ: اثر سطوح مختلف آبیاری در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری بر میزان محتوای آب نسبی برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین در مرحله‌ی شروع غلاف‌دهی نشان داد که کم‌ترین مقدار محتوای آب نسبی برگ (۷٦ درصد) مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی گلدهی بود که به‌طور معنی‌داری از سایر سطوح آبیاری کم‌تر بود (جدول۳). در مرحله‌ی اواسط پر شدن دانه، بیش‌ترین مقدار میزان محتوای نسبی آب برگ (۸۰ درصد) مربوط به آبیاری کامل و کم‌ترین آن (٦٤ درصد) مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی بود (جدول۳). محتوای نسبی آب برگ یکی از شاخص‌های اصلی نشان‌دهنده‌ی وضعیت آبی گیاهان تحت تنش خشکی است (۲٦). این پارامتر با میزان رطوبت خاک رابطه مستقیم دارد، به طوری که تنش خشکی موجب کاهش دسترسی گیاه به آب و کاهش میزان محتوای‌نسبی آب برگ می‌شود (۲۷) و پایین آمدن میزان محتوای نسبی آب برگ و کاهش توژسانس در بافت‌های گیاهی، به طور طبیعی رشد سلول و اندازه‌ی نهایی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۸). خان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که، کاهش میزان محتوای آب نسبی برگ باقلا در اثر تنش کم آبی مربوط به انسداد روزنه‌ها، در اثر تولید بیش‌تر هورمون آبسزیک اسید توسط ریشه، تحت تنش خشکی می‌باشد (۲۹).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک لوبیا قرمز در سطوح مختلف قطع آبیاری و کودهای زیستی.

Table 2- Analysis of variance of physiological traits of red beans at different levels of irrigation and bio-fertilizers.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات Mean Square					
		نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)			نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)		
		محتوای آب نسبی Relative water content	مالون دی آلدهید Malondialdehyd	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	محتوای آب نسبی Relative water content	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
بلوک Block	2	96.06	3.61	0.24	9.62	0.30	2.25
آبیاری Irrigation (I)	2	370.12^{**}	643.92^{**}	321.58^{**}	770.18^{**}	223.78^{**}	134.07^{**}
خطای اصلی Major error	4	37.77	3.31	4.54	10.63	1.93	16.90
زیستی کود Biofertilizer (B)	3	24.34^{ns}	267.18^{**}	28.03^{**}	23.69^{ns}	72.25^{**}	34.8^{**}
آبیاری × کود زیستی I × B	6	14.99^{ns}	34.40^{**}	1.34^{ns}	34.41^{ns}	7.05^{*}	2.54^{ns}
خطای فرعی Minor error	35	24.007	5.83	0.78	33.03	1.91	2.05
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)		5.93	5.87	1.28	7.94	3.57	1.91

ns، *، **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

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

درصد نشت الکترولیت‌ها: اثر هر یک از سطوح آبیاری و کاربرد مختلف کودهای زیستی بر درصد نشت الکترولیت‌ها در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری به صورت مجزا معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که تنش، موجب افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها شد، به‌طوری که بیش‌ترین درصد نشت الکترولیت در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری مربوط به تیمار قطع آبیاری در بود (جدول ٤). نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد کود زیستی باعث کاهش معنی‌دار نشت الکترولیت نسبت به شاهد شد (جدول ٤). کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر و مایکوریزا در لوبیا قرمز باعث افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش رطوبتی شده و گیاه دیرتر تحت تاثیر تنش قرار گرفته، بنابراین، درصد نشت کم‌تری اتفاق افتاد. گزارش شده است که تنش خشکی با ایجاد اکسیژن فعال، افزایش پراکسیداسیون چربی‌های غشا و در نتیجه خسارت به غشای سلول باعث افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها می‌شود (۳۰). دیده شده است که میزان نشت الکترولیت گیاهان تحت شرایط کاربرد قارچ مایکوریزا (۲٦) و باکتری‌ها حل‌کننده فسفر (۳۱) تحت تنش خشکی به دلیل تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی کم‌تر از تیمارهای عدم کاربرد بود که با نتایج حاصل از این پژوهش هم‌سو بود.

مالون‌دی‌آلدهید: برهم‌کنش آبیاری و کودهای زیستی، در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری، بر میزان مالون دی‌آلدهید برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). در مرحله‌ی شروع غلاف‌دهی لوبیا در هر سه سطح آبیاری، بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر این صفت، به ترتیب مربوط به تیمار شاهد و کاربرد تلفیقی مایکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفر بود (جدول ٤). در اواسط پر شدن دانه نیز مشخص شد که، تلفیق قارچ مایکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفر باعث کاهش میزان مالون دی آلدهید نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ٤). سطح مالون‌دی‌آلدهید در گیاه شاخصی مهمی است که نمایان‌گر تخریب غشای سیتوپلاسمی و پراکسیداسیون لیپید در اثر افزایش گونه‌های اکسیژن فعال در شرایط تنش خشکی است (۳۲). مطابق نتایج پژوهش حاضر افزایش مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش خشکی در گیاه لوبیا قرمز گزارش شده است (۳۳). در این آزمایش بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در تیمارهای تنش قطع آبیاری و عدم کاربرد کودهای زیستی مشاهده شد، که بیش‌ترین میزان خسارت اکسیداسیونی و تخریب غشای سیتوپلاسمی را نیز به دنبال داشت. هوآنگ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تلقیح با قارچ مایکوریزا باعث کاهش ۱۳ و ۱۵ درصدی مقدار مالون‌دی‌آلدهید برگ در آبیاری کامل و تنش خشکی شد (۳٤). بیان شده کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر (*Pseudomonas fluorescens*) و مایکوریزا گونه *F. mosseae* با بهبود وضعیت آب گیاه، افزایش سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و کاهش گونه‌های اکسیژن فعال باعث جلوگیری از پراکسیداسیو لیپید و کاهش مالون‌دی‌آلدهید می‌شوند، اما تلفیق کاربرد این دو فاکتور در کاهش سطح خسارت تنش خشکی در گیاه موفق‌تر عمل کرده است (۳۵).

کلروفیل کل: سطوح آبیاری و کاربرد کود زیستی در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری بر میزان کلروفیل کل، در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما بر هم‌کنش آن‌ها تاثیر معنی‌داری بر صفت مذکور نداشت (جدول ۵). در مرحله‌ی غلاف‌دهی کم‌ترین میزان کلروفیل کل (۱/۰۲ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف‌دهی و در نمونه‌برداری در مرحله پرشدن دانه، و کم‌ترین مقدار آن (۱/۱۰ میلی‌گرم) مربوط تیمار قطع آبیاری بود (جدول ٦).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری و کودهای زیستی برای صفات فیزیولوژیک لوبیا قرمز.

Table 3- Mean comparison the effect of irrigation and biofertilizers levels for red bean physiological traits.

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments		نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)		نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)	
		محتوای آب نسبی (درصد) Relative water content (%)	نشت الکترولیت (درصد) Electrolyte leakage (%)	محتوای آب نسبی (درصد) Relative water content (%)	نشت الکترولیت (درصد) Electrolyte leakage (%)
سطوح آبیاری Irrigation levels	آبیاری کامل Normal irrigation	86.56[a]	64.97[b]	80.06[a]	72.09[b]
	قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف دهی Irrigation cut-off in flowering to podding stage	76.16[b]	74.83[a]	72.87[b]	73.43[b]
	قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی Irrigation cut-off in podding to maturity stage	85.98[a]	67.17[b]	64.06[c]	78.43[a]
سطوح کود زیستی Biofertilizer levels	شاهد Control	80.90[a]	71.37[a]	69.97[a]	77.22[a]
	باکتری‌های حل کننده فسفر Phosphorus solubilizing bacteria	81.45[a]	69.29[b]	73.63[a]	75.14[b]
	مایکوریزا Mycorrhiza	83.63[a]	67.67[c]	73.06[a]	73.27[c]
	باکتری‌های حل کننده فسفر + مایکوریزا Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza	84.28[a]	67.63[c]	72.66[a]	72.97[c]

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

In each column, the means with at least one common letter have no significant difference in the 5% probability level of LSD test.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی در هر سطح تنش رطوبتی بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید برگ.

Table 4- Mean comparison the effect of biofertilizers at each moisture stress level on leaf malondialdehyde content.

سطوح آبیاری Irrigation levels	سطوح کودهای زیستی Biofertilizer levels	مالون دی آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر برگ) Malondialdehyde (µmol/g FW)	
		نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)	نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)
آبیاری کامل Normal irrigation	شاهد Control	42.19[a]	37.01[a]
	باکتری‌های حل کننده فسفر Phosphorus solubilizing bacteria	39.20[ab]	36.97[a]
	مایکوریزا Mycorrhiza	35.39[bc]	35.26[a]
	باکتری‌های حل کننده فسفر + مایکوریزا Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza	34.99[c]	32.57[b]
قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف دهی Irrigation cut-off in flowering to podding stage	شاهد Control	58.00[a]	40.86[a]
	باکتری‌های حل کننده فسفر Phosphorus solubilizing bacteria	53.43[b]	39.82[a]
	مایکوریزا Mycorrhiza	47.30[c]	33.67[b]
	باکتری‌های حل کننده فسفر + مایکوریزا Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza	39.29[d]	33.52[b]
قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی Irrigation cut-off in podding to maturity stage	شاهد Control	43.99[a]	47.65[a]
	باکتری‌های حل کننده فسفر Phosphorus solubilizing bacteria	39.79[a]	43.43[b]
	مایکوریزا Mycorrhiza	29.95[b]	42.83[b]
	باکتری‌های حل کننده فسفر + مایکوریزا Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza	33.99[b]	40.39[c]

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

In each column, the averages with at least one common letter have no significant difference in the 5% probability level of LSD test.

در مرحله‌ی اول نمونه‌برداری کم‌ترین مقدار کلروفیل کل مربوط به تیمار شاهد و در مرحله دوم نمونه‌برداری بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار باکتری‌های حل‌کننده فسفر + مایکوریزا بود (جدول ٦). میزان سنجش سطح تخریب تنش، تغییرات در سطح کلروفیل یک فاکتور مهم تلقی می‌شود. تنش خشکی به دلیل اختلال در سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش گونه‌های اکسیژن فعال و تخریب غشای کلروپلاستی موجب کاهش محتوای کلروفیل و کارتنوئید برگ در گیاه می‌شود (٣٦). به‌طور کل گزارش شده است تنش خشکی به‌ویژه در اواسط دوره پر شدن غلاف باعث کاهش کلروفیل در گیاه لوبیا قرمز می‌شود و سطح کلروفیل در عملکرد دانه لوبیا قرمز بسیار تاثیرگزار بوده، به‌طوری که ژنوتیپ‌هایی که دارای محتوای کلروفیل برگ بیش‌تری بودند، نسبت به آن‌هایی که محتوای کم‌تری در شرایط تنش داشتند، عملکرد دانه بالاتری تولید کردند (٣٧). یدوی و همکاران (٢٠١٤) گزارش کردند که میزان کلروفیل در لوبیا قرمز تحت تنش متوسط و شدید خشکی به ترتیب ٤٤/٢ و ٦٣/٢ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش یافت (٣٨). بیان شده مایکوریزا با افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی، بهبود جذب عناصر و افزایش جذب آب در گیاه موجب افزایش کلروفیل در گیاه نخود شد (٣٩). همچنین، ویدیا و همکاران (٢٠١٦) گزارش کردند باکتری حل‌کننده فسفر در کاهش اثر مخرب تنش بر میزان کلروفیل کل گیاه اثر مثبت داشتند (١٢).

کارتنوئید: اثر آبیاری و کاربرد کود زیستی بر محتوای کارتنوئید برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ٥). در مرحله شروع غلاف‌دهی، کم‌ترین محتوای کارتنوئید در برگ مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی بود که به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سطوح آبیاری معمول و قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی بود (جدول ٦). در مرحله‌ی اواسط پر شدن دانه نیز کم‌ترین محتوای کارتنوئید (١/٥٥ میلی-گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی بود (جدول ٦). نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد کود زیستی باعث افزایش معنی‌دار میزان کارتنوئید شد.

به‌طوری‌که در مرحله‌ی اول و دوم نمونه‌برداری کم‌ترین میزان کارتنوئید مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ٦). در حالی که در دو مرحله‌ی نمونه‌برداری بیش‌ترین محتوای کارتنوئید، در تیمار باکتری‌های حل‌کننده فسفر + مایکوریزا مشاهده گشت (جدول ٥). بن احمد و همکاران (٢٠٠٩) گزارش کردند کاهش محتوای کارتنوئید در طی تنش خشکی، می‌تواند به دلیل اکسایش آن توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختارش باشد. گزارش شده است که محتوای کاروتنوئید در برگ نخود با کاربرد کود زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات، ٢١ تا ٥٠ درصد بیش‌تر از شرایط عدم کاربرد بود (٤٠). همچنین، قارچ مایکوریزا گونه *F. mosseae* با بهبود جذب عناصر موجب افزایش سطح کارتنوئید در گیاه می‌شود (٤١). کارتنوئید و مشتقاتش علاوه بر انتقال انرژی به مراکز فتوسیستم، می‌توانند به عنوان یک آنتی اکسیدان غیرآنزیمی منجر به کاهش اثرات مخرب گونه‌ی اکسیژن فعال در تنش اکسیداتیو شود (٤٢). در نتیجه بهبود این رنگیزه توسط کودهای زیستی موجب بهبود کارایی فتوسنتز و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی گیاه برای مقابله با تنش خشکی می‌شود.

محتوای پرولین: اثر سطوح آبیاری و کاربرد کودهای زیستی بر میزان پرولین در برگ لوبیا قرمز معنی‌دار بود (جدول ٥). بیش‌ترین میزان پرولین برگ در نمونه‌گیری اول مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی گلدهی بود (جدول ٦).

جدول ۵. تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک لوبیا قرمز در سطوح مختلف قطع آبیاری و کودهای زیستی

Table 5- Analysis of variance of physiological traits of red bean at different levels of irrigation and biofertilizers.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات Mean Square					
		نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)			نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)		
		کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid	پرولین Prolin	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid	پرولین Prolin
بلوک Block	2	0.01	0.008	724.87	0.016	0.07	284.67
آبیاری Irrigation (I)	2	0.127^{**}	0.57^{**}	3787.07^{**}	0.20^{**}	0.83^{**}	5143.25^{**}
خطای اصلی Major error	4	0.004	0/02	193.74	0.02	0.08	68.69
زیستی کود Biofertilizer (B)	3	0.15^{**}	0.36^{**}	5267.56^{**}	0.15^{**}	0.27^{*}	8226.02^{**}
آبیاری × کود زیستی I × B	6	0.01^{ns}	0.07^{ns}	112.13^{ns}	0.01^{ns}	0.05^{ns}	177.25^{ns}
خطای فرعی Minor error	35	0.019	0.05	133.62	0.014	0.06	193.80
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)		11.94	12.28	6.18	9.84	14.11	7.34

ns، *، **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

Ns،*،**; Non-significant, significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی در هر سطح تنش رطوبتی برای صفات فیزیولوژیک.

Table 6- Mean comparison the effect of biofertilizers at each moisture stress level for physiological traits.

	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)			نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)		
		کلروفیل کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Total chlorophyll ($mg.g^{-1}FW$)	کارتنوئید برگ (میلی گرم/گرم وزن تر) Leaf carotenoid ($mg.g^{-1}FW$)	پرولین برگ (میکرو گرم/گرم وزن تر) Leaf prolin (µg.g-1 FW)	کلروفیل کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Total chlorophyll ($mg.g^{-1}FW$)	کارتنوئید برگ (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Leaf carotenoid ($mg.g^{-1}FW$)	پرولین برگ (میکروگرم/گرم وزن تر) Leaf prolin (µg.g-1 FW)
سطح آبیاری Irrigation levels	آبیاری کامل Normal irrigation	1.20^{a}	1.86^{a}	178.03^{b}	1.36^{a}	2.07^{a}	174.82^{b}
	قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف‌دهی Irrigation cut-off in flowering to Podding stage	1.02^{b}	1.50^{b}	207.34^{a}	1.21^{ab}	1.75^{b}	180.81^{b}
	قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی Irrigation cut-off in podding to maturity stage	1.21^{a}	1.90^{a}	175.28^{b}	1.10^{b}	1.55^{b}	213.30^{a}
سطح کود زیستی Biofertilizer levels	شاهد Control	0.97^{c}	1.47^{b}	210.64^{a}	1.09^{b}	1.58^{b}	220.71^{a}
	باکتری‌های حل‌کننده فسفر Phosphorus solubilizing bacteria	1.11^{b}	1.88^{a}	199.47^{a}	1.15^{b}	1.72^{ab}	206.39^{b}
	مایکوریزا Mycorrhiza	1.21^{ab}	1.76^{a}	182.38^{b}	1.28^{a}	1.91^{a}	179.02^{c}
	باکتری‌های حل‌کننده فسفر + مایکوریزا Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza	1.27^{a}	1.90^{a}	155.06^{c}	1.38^{a}	1.95^{a}	152.45^{d}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

In each column, the averages with at least one common letter have no significant difference in the 5% probability level of Duncan test.

در مرحلـه‌ی اواسـط پـر شـدن دانـه، بیش‌تـرین (۲۱۳/۳۰ میکروگرم بر گرم برگ) و کم‌ترین (۱۷٤/۸۲ میکروگرم بر گرم برگ) میزان این صـفت مربـوط بـه تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی و آبیاری کامل بود (جدول ٦). در شرایط تنش خشـکی به منظـور تنظـیم پتانسـیل اسـمزی در گیاهـان سـنتز ترکیباتی مانند قند محلول و پرولین افـزایش می‌یابـد. البته پرولین در تثبیت آنزیم‌هـا، جلـوگیری از اختلـال یکپارچگی غشا و مقابله با گونـه اکسـیژن نیـز فعـال می‌شـود (٤۳). زاده بـاقری و همکـاران (۲۰۱۲) نیـز علت تجمع پرولین در برگ لوبیای تحت تـنش را بـه افزایش میزان سنتز پـرولین بوسـیله‌ی پیـرولین – ۵- کربوکسیلاز سـنتتاز، کـاهش فعالییـت آنـزیم پـرولین اکسیداز و اثر تنظیمی اسـید آبسـزیک بـر متابولیسـم پرولین نسبت دادند (٤۲). در رابطه با کاربرد کودهای زیستی نیز در هر دو مرحله، کم‌ترین غلظـت پـرولین برگ مربوط به تیمار مخلوط مایکوریزا و باکتری بود. بیان شـده اسـت کـه کـاربرد مـایکوریز گونـه‌ی *F. Mosseae* با افزایش دسترسی گیاه به آب موجب بهبود وضعیت آب در گیـاه شـده در نتیجـه نیـاز بـه سـنتز اسمولیت‌های نظیر پرولین کاهش می‌یابد (٤٤). نتایج پورکل و روئییز لوزانـو (۲۰۰۵) روی سـویای تحـت خشکی نیز نشان داد که گیاهان تیمار شـده بـا قـارچ مایکوریزا، دارای پرولین کم‌تری نسبت به شاهد مـی-باشند (٤۵).

میزان قند محلول : اثر آبیاری و کاربرد کود زیستی در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری، بر میزان قندهای محلول در برگ، به ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۷). در هر دو مرحله‌ی ، بیش‌ترین میـزان قند محلول، مربوط به تیمارهای قطع آبیـاری بـود، در حالی که گیاهان تحت شرایط آبیاری کامـل، کم‌تـرین غلظت را داشتند (جدول ۸). افزایش قندهای محلـول در شـرایط تـنش خشـکی، مـی‌تواننـد باعـث تنظـیم پتانسیل اسمزی شده (٤۲) و افزایش این اسمولیت در تنش خشکی مطابق با نتایج حاضر در لوبیـا گـزارش شده اسـت (٤٦). در هـر دو نمونـه‌بـرداری کم‌تـرین مقدار غلظت قندهای محلول مربوط به تیمـار کـاربرد تلفیقی مایکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسـفر بـود. در حالی که بیش‌ترین مقدار مشـاهده شـده از آن، در گیاهان مربوط به تیمار بود (جدول ۸). یکـی از علـل کاهش غلظت قندهای محلول در برگ، توسـط تـاثیر کودهای زیستی به دلیل افزایش قدرت گیاه در جذب آب بـا افـزایش دسترسـی گیـاه بـه حجـم بالـایی از رایزوسفر است، که این موضـوع باعـث کم‌تـر شـدن اثرات تنش، مانند افزایش غلظت قنـدهای محلـول در برگ مـی‌شـود. قیصـری زردک و همکـاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که غلظت قند محلول در گیاهان تلقیح شـده بـا مـایکوریزا، تحـت تـنش متوسـط و شـدید خشکی، بـه ترتیـب ۲۲ و ۵۱ درصـد، نسـبت شـاهد افزایش یافت، که با نتایج این تحقیق مغایرت داشـت (۱٤). البته قابل ذکر است که تاثیر قارچ مایکوریزا بـر محتوای قند محلول برگ حتـی در ارقـام متفـاوت از یک گونه ممکن است متفاوت باشد. به عبارت دیگر، دیده شده کـه ایـن قـارچ تـاثیر متفـاوتی در دو رقـم سیب‌زمینی داشت و در یکی از ارقام موجـب کـاهش قند محلول کل شد، ولی در دیگری این اسـمولیت را افزایش داد (٤۷). در نتیجه می‌توان بیان کرد اثـر ایـن قارچ بر تجمع قند محلول به گونه‌ی قارچ و حتی رقم گیاه بستگی دارد.

غلظت پروتئین محلول در برگ: نتایج نشـان داد کـه اثر آبیاری و کودهای زیستی در سطح یک درصد تاثیر معنی‌داری بر غلظـت پـروتئین محلـول بـرگ داشـت (جدول ۷).

جدول ۷- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک لوبیا قرمز در سطوح مختلف قطع آبیاری و کودهای زیستی.

Table 7- Analysis of variance of physiological traits of red bean at different levels of irrigation and biofertilizers.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات Mean Square				عملکرد دانه Grain yield
		نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)		نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)		
		قندهای محلول Soluble sugars	محتوای پروتئین محلول Soluble protein content	قندهای محلول Soluble sugares	پروتئین محلول Soluble protein content	
تکرار Replication	2	68.90	0.002	6.80	0.004	9144.97
آبیاری Irrigation (I)	2	129.52*	0.45**	136.94**	0.64**	15091899.13**
خطای اصلی Major error	4	16.21	0.003	17.58	0.001	19697.83
زیستی کود Biofertilizer (B)	3	375.48**	0.345**	409.02**	0.33**	918719.62**
آبیاری × کود زیستی I×B	6	17.48^{ns}	0.006^{ns}	8.95^{ns}	0.004^{ns}	70967.19**
خطای فرعی Minor error	35	24.00	0.003	11.20	0.002	3436.23
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)		8.66	7.09	6.20	6.74	2.02

ns، *، **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

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

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی در هر سطح آبیاری برای صفات فیزیولوژیک.

Table 8- Mean comparison the effect of biofertilizers at each irrigation level for physiological traits.

		میانگین مربعات Mean square			
		نمونه‌گیری اول (شروع غلاف‌دهی) First sampling (start of podding)		نمونه‌گیری دوم (اواسط پر شدن دانه) Second sampling (mid-grain filling)	
	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	میزان قندهای محلول (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Soluble sugars ($mg.g^{-1}FW$)	غلظت پروتئین محلول (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Soluble protein content ($mg.g^{-1}FW$)	میزان قندهای محلول (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Soluble sugars ($mg.g^{-1}FW$)	غلظت پروتئین محلول (میلی‌گرم/گرم وزن تر) Leaf soluble protein content ($mg.g^{-1}FW$)
سطوح آبیاری Irrigation levels	آبیاری کامل Normal irrigation	54.98^{b}	0.89^{a}	51.99^{b}	0.94^{a}
	قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف‌دهی Irrigation cut-off in flowering to podding stage	60.36^{a}	0.58^{b}	52.08^{b}	0.92^{a}
	قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی Irrigation cut-off in podding to maturity stage	54.40^{b}	0.94^{a}	57.89^{a}	0.53^{b}
سطوح کود زیستی Biofertilizer levels	شاهد Control	63.92^{a}	0.59^{d}	61.73^{a}	0.58^{d}
	باکتری‌های حل‌کننده فسفر Phosphorus solubilizing bacteria	58.88^{b}	0.71^{c}	56.86^{b}	0.71^{c}
	مایکوریزا Mycorrhiza	54.87^{b}	0.85^{b}	51.08^{c}	0.85^{b}
	باکتری‌های حل کننده فسفر + مایکوریزا Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza	48.64^{c}	1.05^{a}	46.27^{d}	1.03^{a}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

In each column, the averages with at least one common letter have no significant difference in the 5% probability level of LSD test.

مقایسه میانگین نشان داد که کم‌ترین میزان پروتئین محلول در مرحله‌ی اول نمونه‌برداری از تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف‌دهی به‌دست آمد در حالی که در مرحله دوم نمونه‌برداری کم‌ترین آن (۰/۵۳ میلی‌گرم برگرم) مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی بود (جدول ۸). کاهش سرعت فتوسنتز در طول دوره‌ی تنش خشکی ممکن است صرف نظر از تاثیر عوامل روزنه‌ای، به علت کاهش فعالیت روبیسکو باشد. روبیسکو مهم‌ترین و فراوانترین پروتئین برگ است و هرگونه کاهش در غلظت پروتئین‌های محلول نشانه‌ی کاهش غلظت روبیسکو بود (۲۷). از دیگر علل کاهش پروتئین در شرایط تنش خشکی اثر مخرب گونه‌های اکسیزن فعال بر این ترکیبات است که موجب اکسیداسیون این مولکول‌ها در گیاه می‌شود (٤٨). از اثرات دیگر تنش خشکی می‌توان تغییر در ساختار و میزان تشکیل پلی‌زوم‌هارا نام برد، که موجب کاهش سنتز پروتئین در گیاه می‌شود (٤٩). مشابه نتایج پژوهش حاضر، کاهش پروتئین محلول برگ در شراط تنش خشکی در لوبیا وجود دارد (۵۰). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که، در هر دو مرحله بیش‌ترین غلظت پروتئین محلول در برگ مربوط به تیمار کاربرد مخلوط باکتری‌های حل‌کننده فسفر و مایکوریزا و کم‌ترین مقدار آن مربوط به شاهد بود (جدول ۸). باکتری‌های حل‌کننده فسفر و مایکوریزا با تحریک بیان ژن‌های مرتبط با سنتز گونه‌های پروتئین، بهبود جذب عناصر نظیر نیتروژن و تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی باعث افزایش پروتئین در گیاه می‌شوند (۵۱).

عملکرد: اثر آبیاری، کود زیستی و برهم‌کنش این دو تیمار، اثر معنی‌داری بر عملکرد دانه داشت (جدول ۷). نتایج تجزیه واریانس برش‌دهی اثر کودهای زیستی در سطوح مختلف آبیاری (جدول ۸) نشان داد که در هر سه سطح آبیاری، بین تیمارهای کودهای زیستی، از لحاظ عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری که در هر سه سطح آبیاری، بیش‌ترین و کم‌ترین عملکرد دانه مربوط به کاربرد هم‌زمان کود باکتری‌های حل‌کننده فسفر + قارچ مایکوریزا بود. کمبود آب در مرحله گل‌دهی باعث افزایش سقط جنین در دانه‌ی گرده می‌شود و در مرحله‌ی تلقیح دانه‌ی گرده باعث کاهش شدت فتوسنتز، افزایش آبسیزیک اسید و کاهش بارگیری آسیمیلات‌ها شده که در نهایت با ریزش گل‌ها و غلاف‌ها عملکرد را کاهش می‌دهد (٤٢). افت شدید عملکرد دانه‌ی لوبیا تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله‌ی گلدهی تا غلاف‌دهی به خوبی نشان می‌دهد که تامین آب کافی به خصوص در مراحل گلدهی و پر شدن دانه در این گیاه برای اطمینان از انتقال مواد فتوسنتزی کافی به دانه‌ها از طریق ایجاد سطح برگ بیش‌تر و پوشش سبز کافی و طولانی مدت ضروری است. افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر، نیتروژن و عناصر ریزمغذی همچنین، بهبود وضعیت آب گیاه، تولید هورمون‌های گیاهی از جمله عوامل تاثیرگذار در بهبود رشد گیاه در شرایط تنش با کاربرد کودهای زیستی نظیر مایکوریزا (۵۲) و باکتری‌های حل‌کننده فسفر است (۲). باکتری‌های حل‌کننده فسفات علاوه بر نقش به‌سزایی که در تولید اسیدهای آلی، آنزیم فسفاتاز و جذب فسفر دارند باعث تولید هورمون‌هایی نظیر اکسین می‌شوند (۸) و در شرایط کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات رشد ریشه، ریشه‌های جانبی ریشه‌های مویی تقویت می‌یابد که خود منجر به سیستم ریشه ای پر تراکم است که در شرایط تنش موجب افزایش مقاومت و بهبود عملکرد می‌شود (۵۳، ٥٤). اما با توجه به تعاملات بین باکتری‌های حل‌کننده فسفر و قارچ‌های مایکوریزا، کاربرد هم‌زمان این دو فاکتور میتواند با اثر هم‌افزایی

که بریکدیگر دارند، علـاوه بـر بهبـود میکروبیولـوژی خاک، موجب افزایش سنتز بیش‌تری از ترکیبات نظیر بسیاری از اسیدهای آلی و آنزیم فسفاتاز می‌شـود کـه به نوبه خود نقش مهمی در بهبود شـرایط رشـد گیـاه نسبت به کاربرد هر یک از این عوامل به تنهـایی دارد (۱۱). همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد دانـه و میزان کلروفیل، RWC و پروتئین محلول برگ (داده‌ها نشان داده نشده است) نیز نشان دهنده بهبـود شـرایط رشدی و فتوسـنتزی گیـاه در شـرایط حضـور قـارچ مایکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفر می‌باشـد کـه می‌تواند اثرات منفی تنش قطع آبیاری بـر عملکـرد را تقلیل دهد.

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی در هر سطح آبیاری برای عملکرد دانه لوبیا قرمز.

Table 9- Mean Comparison the effect of biofertilizers at each irrigation level for red bean seed yield.

سطوح آبیاری Irrigation levels	Biofertilizer levels سطوح کودهای زیستی	عملکرد دانه (کیلوگرم بر هکتار) Grain yield ($kg.ha^{-1}$)
آبیاری کامل Normal irrigation	Control شاهد	2888.33d
	Phosphorus solubilizing bacteria باکتری‌های حل‌کننده فسفر	3585.00c
	Mycorrhiza مایکوریزا	3819.17b
	Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza باکتری‌های حل‌کننده فسفر + مایکوریزا	3999.17a
قطع آبیاری در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف دهی Irrigation cut-off in flowering to podding stage	Control شاهد	1130.83c
	Phosphorus solubilizing bacteria باکتری‌های حل‌کننده فسفر	1495.83b
	Mycorrhiza مایکوریزا	1460.83b
	Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza باکتری‌های حل‌کننده فسفر + مایکوریزا	1635.83a
قطع آبیاری در مرحله‌ی غلاف‌دهی تا رسیدگی Irrigation cut-off in podding to maturity stage	Control شاهد	1532.5c
	Phosphorus solubilizing bacteria باکتری‌های حل‌کننده فسفر	2004.17b
	Mycorrhiza مایکوریزا	2055ab
	Phosphorus solubilizing bacteria + Mycorrhiza باکتری‌های حل‌کننده فسفر + مایکوریزا	2112.5a

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD می‌باشند.

The averages with at least one common letter have no significant difference in the 5% probability level of LSD test.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمـایش نشـان داد کـه تـنش خشـکی به‌صورت قطع آبیاری در هر دو مرحله اعمـال شـده، موجب کـاهش رنگیـزه‌هـای فتوسـنتزی و در نتیجـه کاهش عملکرد در لوبیا رقم درخشان شـد، البتـه اثـر تنش در مرحله‌ی گل‌دهی تا غلاف‌دهـی بـر عملکـرد بیش‌تر بود. در شرایط تـنش خشـکی (قطـع آبیـاری) کـاربرد تلفیقـی کودهـای زیسـتی مـایکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفر، باعـث کـاهش خسـارت تنش خشکی شده و از کاهش عملکـرد دانـه تـا حـد زیـادی جلـوگیری کـرد. همچنـین، کـاربرد کودهـای زیستی در شرایط بـدون تـنش باعـث افـزایش قابـل توجهی در عملکرد لوبیا قرمز رقم درخشان شد.

References

1. Weatherley, P.E. 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. New Phytol. 49: 81-97.

2. Faraji Pain Rudposhti, M., Mobaser, H., Ghanbari Malidreh, A. and Nazari Nasi, H. 2012. The effect of drought stress on gas exchange and water relations of red bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). Crop Prod Environ Stress. 4: 4. 13-26. (In persian).
3. Madani, K., AghaKouchak, A. and Mirchi, A. 2016. Iran's socio-economic drought: challenges of a water-bankrupt nation. Ir Studies. 49: 6. 997-1016.
4. Halo, Boshra A., Rashid A. Al-Yahyai and Abdullah M. Al-Sadi. 2020. An endophytic *Talaromyces omanensis* enhances reproductive, physiological and anatomical characteristics of drought-stressed tomato. J Plant Physiol. 249: 5. 153163.
5. Saraswathi, S.G. and Paliwal, K. 2011. Drought induced changes in growth, leaf gas exchange and biomass production in *Albizia lebbeck* and *Cassia siamea* seedlings. J Environ Biol. 32: 2. 173-180.
6. Kusvuran, S. and Dasgan, H. Y. 2017. Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in *Phaseolus vulgaris* L. Legume Res. 40: 1. 55-62.
7. Singh, P.K., Singh, M. and Tripathi, B. N. 2013. Glomalin: an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein. Protoplasma. 250: 3. 663-669.
8. Srivastava, S., Chaudhry, V., Mishra, A., Chauhan, P.S., Rehman, A., Yadav, A., Tuteja, N. and Nautiyal, C.S. 2012. Gene expression profiling through microarray analysis in Arabidopsis thaliana colonized by *Pseudomonas putida* MTCC5279, a plant growth promoting rhizobacterium. Plant Signal Behav. 7: 2. 235-245.
9. Bukhat, S., Imran, A., Javaid, S., Shahid, M., Majeed, A. and Naqqash, T. 2020. Communication of plants with microbial world: Exploring the regulatory networks for PGPR mediated defense signaling. Microbiol Res. 126486.
10. Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J Microbiol Biotechnol. 28: 4. 1327-1350.
11. Taktek, S., Trépanier, M., Servin, P.M., St-Arnaud, M., Piché, Y., Fortin, J.A. and Antoun, H. 2015. Trapping of phosphate solubilizing bacteria on hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198. Soil Biol Biochem. 90: 11. 1-9.
12. Vidya, P., Shintu, P.V. and Jayaram, K.M. 2014. Impact of phosphate solubilizing bacteria (*Bacillus polymixa*) on drought tolerance of green gram (*Vigna radiate* L. Wilczek). Ann Plant Sci. 5: 4. 1318-1323.
13. 13.Rapparini, F. and Peñuelas, J. 2014. Mycorrhizal fungi to alleviate drought stress on plant growth. P 21-42. In use of microbes for the alleviation of soil stresses, Volume 1. Springer. New York, NY.
14. Gheiari Zardak, S., Movahedi Dehnavi, M., Salehi, A. and Gholamhoseini, M. 2017. Responses of field grown fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) to different mycorrhiza species under varying intensities of drought stress. J. Appl Res Medicin Aromat Plants. 5: 16-25.
15. Heidari. M. and Karami, V. 2015. Effects of different mycorhiza species on grain yield, nutrient uptake and oil content of sunflower under water stress. J Saudi Soc Agric Sci. 13: 1. 9-13.
16. Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A. and Ashraf, M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnol Adv. 32: 2. 429-448.
17. Calvo-Polanco, M., Sánchez-Romera, B., Aroca, R., Asins, M. J., Declerck, S., Dodd, I. C. and Ruiz-Lozano, J. M. 2016. Exploring the use of recombinant inbred lines in combination with beneficial microbial inoculants (AM fungus and PGPR) to improve drought stress tolerance in tomato. Environ Exp Bot. 131: 47-57.
18. Rahmani, H.A., Räsänen, L.A., Afshari, M. and Lindström, K. 2011. Genetic diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* L. grown in soils of Iran. Appl Soil Ecol. 48: 3. 287-293.
19. Kamelmanesh, M.M., Dorri, H.R., Ghasemi, S., Bihamta, M.R. and Darvish F. 2008. Gene action for resistance to Bean common mosaic virus (BCMV) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Ir J. Field Crops Res. 6: 2. 363-370. (In persian)

20. Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys. 125: 1. 189-198.
21. Paquine, R. and Lechasseur, P. 1979. Observations sur une methode dosage la libre dans les de plantes. Can J Bot. 57: 18. 1851-1854.
22. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced change in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa*) plant. Physiol Plant. 84: 1. 55-60
23. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron J. 23: 112-121.
24. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Meth Enzymol. 148: 350-382.
25. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Analyt Biochem. 72: 1-2. 248-252.
26. Tyagi, J., Varma, A. and Namdeo Pudake, R. 2017. Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet (*Eleusine coraca*na) under drought stress. Europ J. Soil Biol. 81: 1-10.
27. Saeidi, M., moradi, F., Ahmadi, E., Sepehri, R., Najafian, G. and Shabani, A. 2011. The effect of terminal water stress on physiological cahracteristics and sink- source relations in two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Ir J. Crop Sci. 12: 4. 392-408 . (In Persian)
28. Zhang, S.H., Xu, X.F., Sun, Y.M., Zhang, J.L. and Li, C.Z. 2018. Influence of drought hardening on the resistance physiology of potato seedlings under drought stress. J Integr Agric. 17: 2. 336-347.
29. Khan, H.U., Link, W., Hocking, T. and Stoddard, F. 2007. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). Plant Soil. 292: 1-2. 205-217.
30. Mousavifar, E., Behdani, M.A., Jami Al-Ahmadi, M. and Hosseini Bejd, M.S. 2010. Effect of low irrigation on quantitative and qualitative characteristics of grain production in spring safflower cultivars. Ir Agric Res. 8: 2. 375-383. (In Persian)
31. 31.Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Sharma, A. and Tiwari, S. 2016. Amelioration of drought tolerance in wheat by the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria. Plant Biol. 18: 6. 992-1000.
32. Chakrabarty, D., Chatterjee, J. and Datta, S.K. 2007. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in chrysanthemum florets. Plant Growth Regul. 53:2. 107-115.
33. Keshavarz, H. and Khodabin, G. 2019. The role of uniconazole in improving physiological and biochemical attributes of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to drought stress. J Crop Sci Biotechnol. 22: 2. 161-168.
34. Huang, Y.M., Zou, Y.N. and Wu, Q.S. 2017. Alleviation of drought stress by mycorrhizas is related to increased root H_2O_2 efflux in trifoliate orange. Sci Rep. 7: 42335
35. Alipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N., Rejali, F. and Soleimani, M. 2020. Biochemical response and interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria during establishment and stimulating growth of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G.) under drought stress. Sci. Hortic. 261: 108923.
36. Kaczmarek, M., Fedorowicz-Strońska, O., Głowacka, K., Waśkiewicz, A. and Sadowski, J. 2017. $CaCl_2$ treatment improves drought stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). Acta Physiol Plant. 39: 41. 3-11.
37. Darkwa, K., Ambachew, D., Mohammed, H., Asfaw, A. and Blair, M. W. 2016. Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia. Crop J. 4: 5. 367-376.
38. Yadavi, A.R., Saeidi Aboueshaghi, R., Movahhedi Dehnavi, M. and Balouchi, H.R. 2014. Effect of micronutrients foliar application on grain qualitative characteristics and some physiological traits of bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) under drought stress. Ind J Fund Appl Life Sci. 4: 4. 2231-6345.

39.39.Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., Golezani, K.G. and Mohammadi, K. 2012. Changes of antioxidative enzymes, lipid peroxidation and chlorophyll content in chickpea types colonized by different Glomus species under drought stress. Symbiosis. 56: 1. 5-18.
40. Ansari, M.F., Tipre, D.R. and Dave, S.R. 2015. Efficiency evaluation of commercial liquid biofertilizers for growth of *Cicer aeritinum* (chickpea) in pot and field study. Biocatal Agric Biotechnol. 4: 1. 17-24.
41. Hristozkova, M., Geneva, M., Stancheva, I., Boychinova, M. and Djonova, E. 2016. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in attenuation of heavy metal impact on *Calendula officinalis* development. Appl Soil Ecol. 101: 57-63.
42. Zadehbagheri, M., Kamelmanesh, M.M., Javanmardi, Sh. and Sharafzadeh, Sh. 2012. Effect of drought stress on yield and yield components, relative leaf water content, proline and potassium ion accumulation in different white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotype. Afr J Agric Res. 42: 5661-5670.
43. Rejeb, K.B., Abdelly, C. and Savouré, A. 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. Plant Physiol Biochem. 80: 278-284.
44. Ren, C.G., Kong, C.C., Yan, K. and Xie, Z.H. 2019. Transcriptome analysis reveals the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on *Sesbania cannabina* expose to high salinity. Sci Rep. 9: 1. 1-9.
45. Porcel. R. and Ruiz-Lozano, J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. J Exp Bot. 55: 403. 1743-1750.
46. Petropoulos, S.A., Fernandes, A., Plexida, S., Chrysargyris, A., Tzortzakis, N., Barreira, J. and Ferreira, I.C. 2020. Biostimulants application alleviates water stress effects on yield and chemical composition of greenhouse green bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Agron. 10: 181. 1-26.
47. Yooyongwech, S., Samphumphuang, T., Tisarum, R., Theerawitaya, C. and Cha-Um, S. 2017. Water-deficit tolerance in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by foliar application of paclobutrazol: role of soluble sugar and free proline. Front Plant Sci. 8: 1400.
48. Golldack, D., Li, C., Mohan, H. and Probst, N. 2014. Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. Front Plant Sci. 5: 151
49. Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A. and Abbassi, F. 2011. The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. Afr J Agric Res. 6: 4. 798-807.
50. Figueiredo, M.V., Burity, H.A., Martinez, C.R. and Chanway, C.P. 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. Appl Soil Ecol. 40: 1. 182-188.
51. 51.Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. and Abdel-Wahhab, M. A. 2012. Tolerance of mycorriza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. J. Plant Physiol. 169: 7. 704-709.
52. Ganjeh, S.G. and Salehi, A. 2015. Effects of different levels of vermicompost and biofertilizers on essential oil content and uptake of some elements in cumin (*Cuminum cyminum* L.). Ir J Med Aromat Plants. 31: 5. 822-829.
53. Overvoorde, P., Fukaki, H. and Beeckman, T. 2010. Auxin control of root development. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2: 6. a001537
54. Lopes, M.S., Araus, J.L., Van Heerden, P.D. and Foyer, C.H. 2011. Enhancing drought tolerance in C_4 crops. J Exp Bot. 62: 9. 3135-3153.