Journal of Soil Management and Sustainable Production

Print ISSN: 2322-1267
Online ISSN: 2322-1275

Soil Science Society of Iran

Interaction of rhizobium bacterium, mycorrhiza fungus and smoke water solution on root traits and agrophysiological characteristics of chickpea

Saba Tavazoee[1], Saeid Jalali-Honarmand[*2], Ali Rasaei[3]

1. M.Sc., Dept. of Plant Production and Genetic, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: sabatavazoee16@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Plant Production and Genetic, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: sjhonarmand@razi.ac.ir
3. Assistant Prof., Sararood Branch, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, AREEO, Kermanshah, Iran. E-mail: a.rasaei@areeo.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.09.2023
Revised: 01.17.2024
Accepted: 01.21.2024

Keywords:
Chickpea,
Mycorrhiza,
Relative leaf water content,
Rhizobium,
Smoke Water

ABSTRACT

Background and Objectives: Plant nutrition, especially rainfed crops, is one of the most crucial management programs in increasing the quantitative and qualitative yield of crops. Thus, the method of plant nutrition is accompanied by reducing production costs, preserving the environment and implementing sustainable agriculture. Therefore, in order to investigate the interaction of smoke water, mycorrhiza fungus and rhizobium bacteria on root traits and agrophysiological characteristics of chickpea, an experiment was carried out in the crop year of 2019 in the research farm at Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University.

Materials and Methods: The experiment was carried out as split plots based on a randomized complete block design with three replications. The treatments included four levels of smoke water and the type of application (one liter per hectare as foliar spraying, 2 and 4 liters per hectare as soil application and control) as the main plots and three combinations of microorganisms including rhizobium (1750 grams of chickpea + 100 cc of Mesorhizobium Ciceri), mycorrhiza (1750 grams of chickpea + 100 cc of water + 60 grams of arbuscular mycorrhizae + 5 grams of sugar), rhizobium and mycorrhiza (1750 grams of chickpeas + 100 cc of rhizobium + 60 grams of mycorrhiza) along with the control were considered as subplots.

Results: The results showed that the effect of smoke water on the characteristics of the number of root nodules, root diameter, Catalase Enzyme and leaf sugar solution was significant. The effect of biological fertilizers on the characteristics of the number of nodules, root length, root diameter, root dry weight, leaf sugar solution, relative leaf water content, Superoxide dismutase enzyme and Catalase enzyme were significant. The interaction effect of smoke water × biological fertilizer was significant on total chlorophyll and carotenoids. The smoke water factor (1 lit/ha) at two growth stages (vegetative and the beginning of flowering) in terms of Catalase enzyme (189.76 U g^{-1} mg^{-1} Sol. Protein), total chlorophyll (29.167 mg/g) and carotenoids (9.3 mg/g) had the highest values. The soil used of smoke water (4 lit/ha) in terms of root diameter (4.9 mm) and leaf sugar solution (395.35 mg/g fw) also took the highest values. The use of

rhizobium with mycorrhiza in terms of root length (20.4 cm), and rhizobium inoculation alone in terms of the number of root nodules (31 nodules) and root diameter (4.9 mm) and mycorrhiza inoculation alone obtained the highest values in terms of root dry weight (1.2 g) and relative leaf water content (67.1%).

Conclusion: Generally, spraying smoke water with 1 lit/ha at two stages, along with inoculating seeds with rhizobium and mycorrhiza, can improve chickpea agrophysiological characteristics under rainfed conditions.

Cite this article: Tavazoee, Saba, Jalali-Honarmand, Saeid, Rasaei, Ali. 2024. Interaction of rhizobium bacterium, mycorrhiza fungus and smoke water solution on root traits and agrophysiological characteristics of chickpea. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 14 (2), 47-65.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/EJSMS.2024.21501.2109
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
شاپا چاپی: ۱۲۶۷-۲۳۲۲
شاپا آنلاین: ۱۲۷۵-۲۳۲۲
انجمن علوم خاک ایران

برهمکنش باکتری ریزوبیوم، قارچ مایکوریزا و محلول دودآب بر صفات ریشه و خصوصیات اگروفیزیولوژیک نخود

صبا تواضعی[۱]، سعید جلالی‌هنرمند*[۲]، علی رسائی[۳]

۱. کارشناس‌ارشد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
رایانامه: sabatavazoee16@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
رایانامه: sjhonarmand@razi.ac.ir

۳. استادیار پژوهش، معاونت سرارود، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.
رایانامه: a.rasaei@areeo.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۸
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۱

واژه‌های کلیدی:
دودآب،
ریزوبیوم،
مایکوریزا،
محتوی نسبی آب برگ،
نخود

چکیده

سابقه و هدف: تغذیه گیاهان زراعی به‌ویژه محصولات کشت شده به‌صورت دیم یکی از مهم‌ترین برنامه‌های مدیریتی در افزایش عملکرد کمی و کیفی محصولات زراعی است به‌طوری‌که روش تغذیه گیاه همراه با کاهش هزینه‌های تولید و حفظ محیط زیست و در راستای اجرای کشاورزی پایدار باشد. بر این اساس به‌منظور بررسی برهمکنش دودآب، قارچ مایکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر صفات ریشه و خصوصیات اگروفیزیولوژیک نخود، آزمایشی در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی اجرا شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل چهار سطح دودآب و نوع کاربرد (یک لیتر در هکتار به‌صورت محلول‌پاشی، ۲ و ٤ لیتر در هکتار به‌صورت خاک کاربرد و شاهد) به‌عنوان عامل اصلی و سه ترکیب میکروارگانیسم شامل ریزوبیوم، مایکوریزا، ریزوبیوم و مایکوریزا به همراه شاهد به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر دودآب بر صفات تعداد گرهک، قطر ریشه، آنزیم کاتالاز و قند محلول برگ، معنی‌دار شد. اثر کود بیولوژیک بر صفات تعداد گرهک، طول ریشه، قطر ریشه، وزن خشک ریشه، قند محلول برگ، محتوی نسبی آب برگ (RWC)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز معنی‌دار شد. اثر متقابل دودآب در کود بیولوژیک بر صفت

کلروفیل کل و کارتنوئید معنی‌دار گردید. محلول‌پاشی دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار در دو مرحله رویشی و پیش از گلدهی از نظر آنزیم کاتالاز (۱۸۹/۷۶ میکروگرم در میلی‌گرم محلول پروتئین)، کلروفیل کل (۲۹/۱۶۷ میلی‌گرم بر گرم) و کارتنوئید (۹/۳ میلی‌گرم بر گرم) از خود برتری نشان داد. کاربرد خاکی دودآب با غلظت ٤ لیتر در هکتار از نظر قطر ریشه (٤/۹ میلی‌متر) و قند محلول برگ (۳۹۵/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه گیاهی) بیش‌ترین مقادیر را به خود اختصاص داد. کاربرد توأم ریزوبیوم و مایکوریزا از نظر طول ریشه (۲۰/٤ سانتی‌متر) و تلقیح ریزوبیوم به تنهایی از نظر تعداد گرهک ریشه (۳۱ گرهک) و قطر ریشه (٤/۹ میلی‌متر) و تلقیح مایکوریزا به‌تنهایی از نظر صفت وزن خشک ریشه (۱/۲ گرم) و محتوی نسبی آب برگ (٦۷/۱٪) بیش‌ترین مقادیر را به خود اختصاص دادند.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، محلول‌پاشی دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار در دو مرحله و تلقیح بذر با ریزوبیوم و مایکوریزا می‌تواند موجب بهبود خصوصیات اگروفیزیولوژیک نخود در شرایط دیم شود.

استناد: تواضعی، صبا، جلالی‌هنرمند، سعید، رسائی، علی (۱۴۰۳). برهمکنش باکتری ریزوبیوم، قارچ مایکوریزا و محلول دودآب بر صفات ریشه و خصوصیات اگروفیزیولوژیک نخود. *نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار*، ۱۴ (۲)، ۶۵-۴۷.
DOI: 10.22069/EJSMS.2024.21501.2109

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) سومین گیاه مهم از خانواده حبوبات می‌باشد و به‌صورت وسیع در جنوب آسیا، خاورمیانه و شرق آفریقا کشت می‌گردد (۱). نخود با سطح زیرکشت ٥٦٩٥٧٤ هکتار و تولید ٤٥٧٥٥٨ تن، سومین سطح زیرکشت را پس از غلات در کشور به خود اختصاص داده است (۲). نخود از منابع پروتئین گیاهی بوده که دارای ١٦-١٤ درصد پروتئین است. افزون بر آن، به‌دلیل ویژگی مهم تثبیت نیتروژن، در حاصلخیزی خاک برای زراعت بعدی و به‌خصوص کشت غلات می‌تواند مفید واقع شود. (۳). امروزه یکی از مشکلات مهم آلودگی محیط‌زیست، استفاده نادرست از کودهای شیمیایی در بخش کشاورزی است. این امر ضرورت تجدیدنظر روش‌های افزایش تولید را بیش از پیش مشخص می‌سازد. در این راستا استفاده از انواع کودهای زیستی، ضمن کمک به بهبود عملکرد، در کاهش آلودگی محیط زیست نیز مؤثر واقع می‌شوند (٤). یکی از انواع کودهای زیستی قارچ‌های مایکوریزا است که از عوامل ضروری در سیستم پایدار خاک و گیاه محسوب می‌شوند که با ریشه بیش از ۹۷ درصد گیاهان همزیستی دارند (۵). در همزیستی مایکوریزا آربسکولار با گیاه میزبان، بخشی از کربن حاصل از فتوسنتز گیاه به قارچ همزیست عرضه می‌شود و در عوض شبکه گسترده هیف‌های قارچ‌های مایکوریزا آربسکولار آب و مواد معدنی به‌ویژه فسفر را از مناطق غیرقابل دسترس سیستم ریشه جذب و حمل می‌کند. همزیستی گیاه با قارچ مایکوریزا آربوسکولار رشد ریشه گیاه را تسریع و به رشد گیاهان در شرایط نامساعد محیطی مانند خشکی کمک می‌کند (٦). لگوم‌ها به‌ویژه نخود قادرند نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق برقراری رابطه همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم تأمین کنند. باکتری‌های مولد گره بر روی ریشه گیاهان خانواده بقولات باکتری‌های مربوط به جنس ریزوبیوم هستند که قادرند مولکول گازی نیتروژن هوا (N_2) را به آمونیوم (NH_3) تبدیل کنند (۷). باکتری‌های ریزوبیوم علاوه‌بر افزایش زیست فراهمی عناصر معدنی خاک از جمله فسفر و پتاسیم، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، مهار عوامل بیماری‌زا و تولید هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه، عملکرد گیاهان زراعی را نیز تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. ریزوبیوم در تنش‌های غیرزیستی می‌تواند سبب القای مقاومت سیستمیک در گیاهان شود (۸). بسیاری از لگوم‌ها به‌طور هم‌زمان با باکتری ریزوبیوم و قارچ‌های مایکوریزا همزیستی دارند و تلقیح توأم آن‌ها با هر دو میکروارگانیسم، می‌تواند باعث دسترسی بیش‌تر گیاه به فسفر شده و میزان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را افزایش دهد (۹). همزیستی با ریزوبیوم موجب بهبود تثبیت نیتروژن اتمسفر می‌شود و در مقابل مایکوریزا آربوسکولار موجب بهبود توانایی گیاه در جذب فسفر و سایر عناصر می‌شود (۱۰). جذب فسفر به‌خصوص از منابع غیرمحلول این عنصر در صورت برقراری یک همزیستی سه‌گانه بین گیاه به‌عنوان میزبان، ریزوبیوم و قارچ‌های مایکوریزا موجب افزایش فعالیت آنزیم نیتروژناز و عملکرد محصول بقولات می‌شود (۱۱). دودآب یک ترکیب فعال زیستی محرک رشد و نمو بذر و گیاه است. پتانسیل محرک دود مشتق شده از گیاهان در تحریک جوانه‌زنی بذر، افزایش رشد و افزایش عملکرد بخش‌های اقتصادی گیاهان در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است (۱۲). کشاورزان به‌طور سنتی از آتش و دود در بخش‌های مختلفی از کشاورزی استفاده می‌کنند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات فعال زیستی دود در آب محلول می‌باشند و در غلظت‌های بسیار پایین به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی کاربرد دارند (۱۳). دود در کشاورزی از دو روش آئروسل و دودآب استفاده

می‌شود. آسان‌ترین روش استفاده از دود، کاربرد دودآب می‌باشد (۱٤). دود دارای ترکیب بوتنولید است و می‌تواند قدرت جوانه‌زنی را بهبود بخشد (۱۵). با توجه به مطالب گفته شده، هدف از اجرای این آزمایش بررسی کاربرد غلظت‌های مختلف دودآب به روش محلول‌پاشی و کاربرد خاکی همراه با تلقیح بذر با کودهای بیولوژیک مایکوریزایی و ریزوبیوم، بر صفات ریشه و خصوصیات اگروفیزیولوژیک نخود در شرایط دیم بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه با مختصات عرض جغرافیایی ۳٤ درجه و ۲۱ دقیقه شرقی و طول جغرافیایی ٤۷ درجه و ۹ دقیقه طول شمالی با میانگین ارتفاع ۱۳۱۹ متر از سطح دریا در سال زراعی ۱٤۰۰-۱۳۹۹ اجرا گردید. آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. چهار سطح دودآب و نوع کاربرد (یک لیتر در هکتار به‌صورت محلول‌پاشی، ۲ و ٤ لیتر در هکتار به‌صورت کاربرد خاکی و شاهد) به‌عنوان عامل اصلی و سه ترکیب میکروارگانیسم شامل ریزوبیوم (۱۷۵۰ گرم نخود + ۱۰۰ میلی‌لیتر مزوریزوبیوم سیسری با غلظت 10^{7} CFU/ml)، مایکوریزا (۱۷۵۰ گرم نخود + ۱۰۰ سی‌سی آب + ٦۰ گرم مایکوریز آربوسکولار + ۵ گرم شکر)، ریزوبیوم و مایکوریزا (۱۷۵۰ گرم نخود + ۱۰۰ سی‌سی ریزوبیوم + ٦۰ گرم مایکوریزا) به همراه شاهد به‌عنوان عامل فرعی در نظرگرفته شد. هر کرت فرعی شامل ۵ ردیف کاشت به طول ٤ متر و فاصله بین ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر بود. هم‌چنین به‌منظور جلوگیری از انتقال جانبی تیمارهای مورد استفاده در هر کرت یک خط به‌صورت نکاشت و بین هر تکرار ۱/۵ متر فاصله درنظر گرفته شد. مایه تلقیح تجاری باکتری ریزوبیوم هم‌زیست نخود (مزوریزوبیوم سیسری)، از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد و مطابق با روش توصیه شده توسط این مؤسسه بذرهای نخود تلقیح شدند. هم‌چنین جهت تلقیح بذور با قارچ مایکوریز از نوع مایکوریزا آربوسکولار با نام تجاری مایکوروت (بنابر اظهار شرکت سازنده و براساس تأییدیه مؤسسه تحقیقات خاک و آب شامل ترکیبی از گونه‌های مختلف مایکوریزا زراعی) مطابق با روش توصیه شده استفاده گردید. رقم نخود مورد استفاده در این آزمایش رقم عادل بود. این رقم برای مناطق معتدل و نیمه‌گرمسیری معرفی شده است که از معاونت مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم سرارود کرمانشاه تهیه شد. کاشت بذور بعد از اعمال تیمارهای ریزوبیوم و مایکوریزا به‌صورت دستی انجام گرفت. اعمال دودآب به‌صورت کاربرد خاکی (۲ و ٤ لیتر در هکتار) در مرحله ۲-۱ برگی گیاه نخود انجام شد و اسپری برگی دودآب (یک لیتر در هکتار) در دو مرحله یکی ابتدای رشد رویشی و دیگری قبل از گلدهی توسط سم‌پاش شارژی اعمال گردید. فرآیند تهیه محلول زیست‌فعال محرک رشد (دودآب) از بقایای گیاهی با شماره ثبت اختراع ۱۰۰۷۳۷ توسط دستگاه تولید ترکیبات بیواکتیو گیاهی با شماره ثبت اختراع ۹۹۰۱۹ در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه (تولید شرکت زیست فناوران سانیار) انجام شد. در این روش گاز حاصل از احتراق ترکیب بقایای گیاهی گندم و یونجه درون راکتور مخصوص، پس از سرد شدن وارد مخزن حلال شده و بعد از به اشباع رسیدن فرایند و عملیات فیلتراسیون آزمایشگاهی (با اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مانند pH، هدایت الکتریکی، کدورت و رنگ‌سنجی) به‌صورت محلول قرمز رنگ (آجری رنگ) درآمده و مورد استفاده قرار گرفت. قبل از هر

محلول‌پاشی وجین علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام گرفت. به‌صورت کاملاً تصادفی از هر کرت ۵ بوته با احتساب اثرات حاشیه‌ای انتخاب شد و صفات وزن خشک ریشه، تعداد گرهک، طول ریشه، قطر ریشه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، قند محلول برگ، پروتیئن محلول و محتوی نسبی آب برگ به شرح ذیل اندازه‌گیری شدند.

تعداد گره تشکیل شده روی ریشه: در مرحله غلاف‌دهی، تعداد گره‌های تشکیل شده روی ریشه پنج بوته را شمرده و میانگین آن‌ها به‌عنوان تعداد گره تشکیل شده ریشه ثبت گردید.

طول و قطر ریشه: در مرحله غلاف‌دهی، با استفاده از خط‌کش و کولیس دیجیتال به‌ترتیب طول و قطر (یک سانتی‌متر زیر طوقه) ریشه پنج بوته را اندازه‌گیری کرده و میانگین آن‌ها ثبت گردید.

وزن خشک ریشه: در مرحله غلاف‌دهی، پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و قرار دادن نمونه‌ها در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت، وزن خشک ریشه پنج بوته از هر کرت با استفاده از ترازو توزین و میانگین آن‌ها به‌عنوان وزن خشک ریشه ثبت گردید.

تعیین محتوی کلروفیل کل و کارتنوئیدها: به‌منظور اندازه‌گیری محتوی کلروفیل و کارتنوئیدها از روش تغییریافته آرنون (۱۹۷۵) و اشرف و همکاران (۱۹۹٤) استفاده شد. ابتدا ۰/۲۵ گرم برگ تازه را در هاون چینی با نیتروژن مایع پودر کرده سپس با چهار میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد در تاریکی کاملاً مخلوط گردید. برای یکنواخت شدن محلول به‌دست آمده، لوله‌ها را چندبار تکان‌داده و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شدند. سپس میزان جذب مایع رویی این نمونه‌ها در طول موج ٦٦۳، ٦٤٦ و ٤۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا (BioTek Powerwave XS2) قرائت شد و با استفاده از روابط زیر غلظت کلروفیل a، b و کارتنوئیدها محاسبه گردید (١٦، ١٧).

$$Chl\ a = 12.21\ (A663) - 2.81\ (A646)$$

$$Chl\ b = 20.13\ (A646) - 5.1\ (A663)$$

$$Total\ Chl = Chl\ a + Chl\ b$$

$$Car = (1000\ A470 - 3.27\ [Chl\ a] - 104\ [Chl\ b]\ /227)$$

اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ: برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ پس از نمونه‌برداری، وزن تر قطعات برگی اندازه‌گیری شد و سپس نمونه‌ها را ۱۸ ساعت در تاریکی درون آب مقطر قرارداده و وزن اشباع آن‌ها اندازه‌گیری شد. بعد از آن نمونه‌ها در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۸ ساعت قرار گرفتند و وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. در نهایت محتوی نسبی آب برگ برحسب درصد از رابطه زیر محاسبه شد (۱۸).

$$\%RWC: (FW - DW) / (TW - DW) \times 100$$

که در آن، TW وزن آماس برگ، FW وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، DW وزن خشک برگ.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و صفات بیوشیمیایی بعد از اتمام آزمایش نمونه‌های گیاهچه را در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از قرار دادن در ازت مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. از نمونه‌های تهیه شده در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و صفات بیوشیمیایی استفاده گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و صفات بیوشیمیایی در آزمایشگاه‌های فیزیولوژی گیاهان زراعی و بیوتکنولوژی مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه رازی انجام شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های محلول: به‌منظور اندازه‌گیری این صفت ابتدا ۰/۰۱ گرم از ماده شیمیایی کوماسی بریلیانت بلو در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد با همزمن مغناطیسی در فضایی تاریک حل شد سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسیدفسفریک ۸۵ درصد به‌صورت قطره‌ای به آن اضافه گردید و بعد محلول با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (بافر برادفورد). برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر بافر استخراج، ۰/٦۰۷ گرم تریس با ۰/۰۵ گرم PVP در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌طور کامل حل شد. در ادامه توسط اسید کلریدریک pH محلول در حدود هشت تنظیم شد. سپس به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول به‌دست آمده تا زمان شروع اندازه‌گیری‌ها در یخچال و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور تهیه عصاره گیاهی جهت اندازه‌گیری محتوی پروتئین‌های محلول برگ، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های برگ توسط نیتروژن مایع به‌طور کامل خرد شد. سپس دو میلی‌لیتر بافر استخراج به آن اضافه شد و در هاون چینی به‌طور کامل هموژن شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای بین صفر تا ٤ درجه سانتی‌گراد در یخچال قرار داده شدند تا استخراج پروتئین‌های محلول به خوبی انجام شود. سپس نمونه‌ها در لوله‌های ۲ میلی‌لیتری به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از جدا کردن فاز شناور رویی، ۲۰ میکرولیتر از آن در ۵ میلی‌لیتر از معرف فوق ریخته شد و بعد از ۵ دقیقه میزان جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر به‌وسیله دستگاه الایزا (Bio Tek Powerwave XS2) اندازه‌گیری شد. بافر استخراج به‌عنوان شاهد استفاده شد. برای کمی نمودن غلظت پروتئین‌های محلول، از غلظت‌های مختلف سرم آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد استفاده شد (۱۹).

اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD): برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت این آنزیم از روش چانس و ماهلی (۱۹۹۵) استفاده شد که در آن اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسیدشدن گایاکول توسط آنزیم پراکسیداز و تشکیل تتراگایاکول انجام می‌گیرد. آنزیم پراکسیداز برای تجزیه پراکسید هیدروژن از گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کند و تتراگایاکول تشکیل می‌شود. نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه با فواصل ۳۰ ثانیه‌ای در طول موج ٤۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا (Bio Tekpower wave XS2) خوانده شدند (۲۰).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش سینها (۱۹۷۲) و بر اساس احیای دی‌کرومات پتاسیم محلول در اسید استیک به کرومیک استات و تشکیل پرکرومیک اسید سبز رنگ در حضور پراکسید هیدروژن و حرارت انجام شد. بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها، با استفاده از دستگاه الایزا (Bio Tekpower wave XS2) میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. به‌منظور تعیین میزان پراکسید هیدروژن مصرفی توسط آنزیم کاتالاز، منحنی استاندارد به کمک غلظت‌های متفاوت پراکسید هیدروژن رسم شد. محلول‌های ۱۵، ۳۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۰/۳۲۰ میلی‌مولار تهیه و طبق دستورالعمل تیتر شدند. در تهیه استانداردها، به جای ۷/۵ میکرولیتر عصاره آنزیم، آب مقطر اضافه شد و در مواردی که مقدار هیدروژن پراکسید کم‌تر از ۷۵ میکرولیتر بود بافر فسفات پتاسیم اضافه شد (۲۱).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، از روش بوچامپ و فریدوویچ

(۱۹۷۱) با اندکی تغییرات استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در متوقف کردن احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم توسط رادیکال‌های سوپراکسید، حاصل از تخریب نوری ریبوفلاوین، می‌باشد. به این ترتیب که در اثر برخورد نور، ریبوفلاوین تخریب و رادیکال سوپراکسید تولید می‌شود. این رادیکال، نیتروبلوتترازولیوم را احیا می‌کند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با غیرفعال کردن رادیکال سوپراکسید از این واکنش جلوگیری می‌کند. مقداری از آنزیم که بتواند از احیای ۵۰ درصد نیتروبلوتترازولیوم ممانعت کند، معادل یک واحد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نظر گرفته می‌شود. در پایان نمونه‌ها در دستگاه الایزا (Bio Tekpower wave XS2) قرار داده شد و میزان جذب نوری آن در طول موج ٥٦٠ نانومتر قرائت شد (۲۲).

قند محلول برگ: به‌منظور اندازه‌گیری قندهای محلول، از هر کرت آزمایشی بوته‌هایی جمع‌آوری گردید، سپس نمونه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس آسیاب شدند. برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل با کمی تغییرات از روش فنل-اسیدسولفوریک استفاده شد. مطابق این روش از هر نمونه ۰/۵ گرم پودر غربال شده به میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتری منتقل شد. مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به ماده خشک موجود در میکروتیوپ‌ها اضافه شده و به‌مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. سپس نمونه‌ها به‌مدت ٦٠ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سردشدن، به‌منظور جدا کردن فاز جامد از مایع، میکروتیوپ‌ها به‌مدت پنج دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس عصاره (فازمایع) حاصل به میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری جدید منتقل گردید. به‌منظور تبخیر اتانول درون میکروتیوپ‌ها، نمونه‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از تبخیر الکل و خشک شدن نمونه‌ها، مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به میکروتیوپ‌ها اضافه شد و به‌شدت ورتکس گردید تا انحلال قندهای چسبیده به جدار ظروف در آب مقطر به خوبی صورت گیرد. سپس در زیر هود، ۱۰ میکرولیتر از نمونه به ۲۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ درصد فنل اضافه شد. در ادامه ۱۲۵۰ میکرولیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد به همه نمونه‌ها اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت ده دقیقه در دمای اتاق گذاشته شدند و سپس میزان جذب نوری آن‌ها در طول موج ٤٨٨ نانومتر توسط دستگاه الایزا (Bio TekPowerwave XS2) قرائت شد (۲۳).

در نهایت نرمال بودن داده‌ها و تجزیه واریانس به‌ترتیب با نرم‌افزارهای SPSS 16.0 و SAS 9.1 انجام شد. مقایسات میانگین داده‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تعداد گرهک تشکیل شده روی ریشه: اثرات ساده کاربرد دودآب (محلول‌پاشی برگی و خاکی) و تلقیح کودهای بیولوژیک با بذر بر تعداد گرهک‌های تشکیل شده روی ریشه نیتروژن نخود معنی‌دار بود اما اثرات متقابل این تیمارها معنی‌دار نشد (جدول ۱). محلول‌پاشی دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار در دو مرحله رویشی و پیش از گلدهی نسبت به شاهد معادل ۳۹ درصد افزایش داشت (جدول ۳). برای کودهای بیولوژیک نیز تلقیح ریزوبیوم به‌تنهایی با میانگین ۳۱ گرهک بر ریشه بیش‌ترین اثر را بر افزایش تعداد گرهک روی ریشه داشت. به‌طوری‌که

این میزان ۲/٦ برابر نسبت به شاهد با میانگین ۱۱/۷ گرهک بیش‌تر بود. هم‌چنین نتایج نشان داد تلقیح بذر نخود با ریزوبیوم به‌تنهایی نسبت به تلقیح توأم آن با قارچ مایکوریزا اثر مثبت بیش‌تری بر تشکیل گرهک روی ریشه داشت (جدول ٤). در آزمایش دماوندی و همکاران (۲۰۱٦)، بین عدم استفاده از مایکوریزا و استفاده از هر یک از گونه‌های آن از نظر تعداد گره‌های ریزوبیوم تفاوت معنی‌داری وجود داشت به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار گره‌های ریزوبیومی مربوط به گونه اینترارادایسس (از قارچ‌های مایکوریزا) بود. و بذور تلقیح‌شده با باکتری برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم نیز در مقایسه با بذور تلقیح‌نشده دارای بیش‌ترین تعداد گره‌های ریزوبیوم بودند (۲٤).

طول ریشه: برای صفت طول ریشه اثرات ساده کاربرد دودآب (محلول پاشی برگی و خاکی) و اثر متقابل دودآب و کودهای بیولوژیک معنی‌دار نشد؛ اما اثر ساده کودهای بیولوژیک معنی‌دار بود (جدول ۱). بین سطوح تلقیح کودهای بیولوژیک، بیش‌ترین میانگین طول ریشه با مقدار ۲۰/٤ سانتی‌متر مربوط به کاربرد توأم ریزوبیوم و مایکوریزا با بذر نخود بود که تفاوت معنی‌دار با کاربرد هر یک از کودهای بیولوژیک به‌تنهایی و شاهد داشت (جدول ٤). در آزمایش مرادی و همکاران (۲۰۱٦) نتایج نشان داد که مایه‌زنی نخود با باکتری ریزوبیوم نسبت به تیمار بدون ریزوبیوم، طول ریشه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. (۲۵). چنین به‌نظر می‌آید که فراهم بودن عناصر غذایی موردنیاز، به‌ویژه نیتروژن و فسفر توسط ریزوبیوم و مایکوریزا برای گیاه نخود و هم‌چنین برقراری تعادل هورمونی در ریشه این گیاه در افزایش طول ریشه آن مؤثر بوده است (۲٦). زیرا طبق پژوهش انجام شده، کمبود اکسین در ریشه‌ها باعث کاهش رشد طولی آن‌ها گشته و تجمع بیش از حد آن در ریشه نیز به‌واسطه تحریک سنتز اتیلن که یک هورمون بازدارنده رشد است، مانع از رشد طولی ریشه می‌شود (۲۷).

قطر ریشه: نتایج تجزیه واریانس برای قطر ریشه متفاوت از طول ریشه بود. چنان‌که برای این صفت هم اثر ساده دودآب (محلول‌پاشی برگی و خاکی) و هم اثر ساده کودهای بیولوژیک معنی‌دار بود؛ اما اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). کاربرد خاکی دودآب به میزان ۲ و ٤ لیتر در هکتار بیش‌ترین میانگین قطر ریشه را ایجاد کردند که تفاوت معنی‌داری با عدم کاربرد دودآب (شاهد) از خود نشان دادند. قطر ریشه ۲۱ و ۳۲ درصد به‌ترتیب در سطوح کاربرد ۲ و ٤ لیتر در هکتار خاک‌مصرف دودآب نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد (جدول ۳). بیش‌ترین قطر ریشه اندازه‌گیری‌شده با میانگین ٤/۹ و ٤/۷ میلی‌متر به‌ترتیب مربوط به سطوح کاربرد ریزوبیوم و کاربرد توأم ریزوبیوم با مایکوریزا بود که نسبت به کاربرد مایکوریزا و شاهد به‌ترتیب با میانگین‌های ٤/۳ و ۳/٦ میلی‌متر تفاوت معنی‌دار داشتند (جدول ٤). در آزمایش ارشدی و همکاران (۲۰۲۱) کاربرد ریزوبیوم به‌طور معنی‌دار و به‌میزان ۷/۸۹ درصد، میانگین قطر ریشه نخود را افزایش داد. گزارش شده است که ریزوبیوم و مایکوریزا به‌واسطه بهبود جذب عناصر غذایی توسط ریشه نخود و تجمع بخشی از آن‌ها در ریشه و نیز اختصاص بیش‌تر فرآورده‌های فتوسنتزی به ریشه‌ها، سبب افزایش میانگین قطر آن‌ها می‌شوند (۲٦).

وزن خشک ریشه: وزن خشک ریشه تحت‌تأثیر اثر ساده دودآب (محلول پاشی برگی و خاکی) و اثر متقابل بین دودآب و کودهای بیولوژیک قرار نگرفت

اما اثر کودهای بیولوژیک بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۱). تلقیح بذر نخود با ریزوبیوم و مایکوریزا به‌تنهایی و توأم، نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار در وزن خشک ریشه داشتند (جدول ٤). در آزمایش فلاحت کارگنجی و همکاران (۲۰۲۲) مایکوریزا اثر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه داشت (۲۸). در آزمایش سهرابی و همکاران (۲۰۱۹) تلقیح نخود با گونه‌های مختلف مایکوریزا در شرایط تنش شدید خشکی در مقایسه با شاهد تلقیح نشده، به‌طور قابل‌توجهی باعث افزایش وزن خشک ریشه گیاه شد (۲۹). تلقیح گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا با نخود معمولاً موجب افزایش وزن خشک ریشه می‌شود که این خود در اندازه آب جذب شده در گیاه، بهبود روابط آبی و افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه مؤثر می‌باشد (۲۵).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات محلول‌پاشی دودآب و کودهای بیولوژیک بر ویژگی‌های ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی نخود.

Table 1. Variance analysis of the effects of foliar spraying of smoke water and biological fertilizers on root characteristics and photosynthetic pigments of chickpea.

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات MS					
		تعداد گرهک Number of Root Nodules	طول ریشه Root Length	قطر ریشه Root Diameter	وزن خشک ریشه Root Dry Weight	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئیدها Carotenoids
تکرار Replication	2	21.2^{ns}	1.28^{ns}	3.01^{ns}	2.29^{**}	70.40^{ns}	11.21^{ns}
محلول‌پاشی Foliar Spraying	3	96.5^{**}	13.17^{ns}	2.92^{*}	0.02^{ns}	273.67^{*}	27.04^{*}
تکرار * محلول‌پاشی (خطای اصلی) Replication* Foliar Spraying	6	8.52	24.84	0.66	0.09	62.39	5.64
کود بیولوژیک Biological Fertilizer	3	830.16^{**}	53.89^{**}	3.50^{**}	0.24^{**}	242.14^{**}	14.64^{**}
محلول‌پاشی * کود بیولوژیک Foliar Spraying* Biological Fertilizer	9	10.25^{ns}	3.71^{ns}	0.26^{ns}	0.04^{ns}	14.61^{**}	2.27^{**}
خطای فرعی	24	8.90	3.36	0.14	0.04	4.32	0.57
ضریب تغییرات (CV%) Coefficient of Variation	-	14.49	10.28	8.63	18.90	11.09	12.37

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** non significant and significant at 5 and 1% probability levels respectively

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات محلول‌پاشی دودآب و کودهای بیولوژیک بر صفات فیزیولوژیک نخود.

Table 2. Variance analysis of the effects of foliar spraying and biological fertilizers on the physiological traits of chickpeas.

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات MS					
		سوپراکسیددیسموتاز Superoxide dismutase	پراکسیداز Praxidese	کاتالاز Catalase	قند محلول برگ Leaf Sugar Solution	پروتئین محلول Soluble Protein	محتوی نسبی آب برگ Relative Leaf Water Content
تکرار Replication	2	115.50^{ns}	2800.71^{ns}	1200.05^{ns}	0.70^{ns}	13.56^{ns}	3245.18*
محلول‌پاشی Foliar Spraying	3	141.18^{ns}	173.38^{ns}	2425.08*	10366.75**	2.40^{ns}	283.21^{ns}
تکرار * محلول‌پاشی (خطای اصلی) Replication*Foliar Spraying	6	117.94	3369.32	319.16	195.58	3.56	315.05
کود بیولوژیک Biological Fertilizer	3	305.99**	251.17^{ns}	2643.53**	4103.47**	1.77^{ns}	674.46**
محلول‌پاشی * کود بیولوژیک Foliar Spraying* Biological Fertilizer	9	39.13^{ns}	653.49^{ns}	139.71^{ns}	281.66^{ns}	2.15^{ns}	41.88^{ns}
خطای فرعی	24	47.56	894.75	242.10	490.82	5.42	67.37
ضریب تغییرات (CV%) Coefficient of Variation	-	8.33	11.98	8.97	7.83	32.89	13.65

^{ns}، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

^{ns}, * and ** non significant and significant at 5 and 1% probability levels respectively

رنگیزه‌های فتوسنتزی: مطابق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثرات ساده کاربرد دودآب (در سطح احتمال ۵ درصد)، کود بیولوژیک و اثر متقابل آن‌ها (در سطح احتمال ۱ درصد) بر رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل کل (a و b) و کارتنوئیدها معنی‌دار شد. بیش‌ترین میزان غلظت رنگیزه کلروفیل کل با میانگین ۲۹/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ مربوط به محلول‌پاشی دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار به همراه تلقیح کودهای بیولوژیک مایکوریزا و ریزوبیوم با بذر نخود بود (جدول ۵). سید شریفی و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که بالاترین محتوای کلروفیل کل در کاربرد هم‌زمان ریزوبیوم با مایکوریزا حاصل می‌شود (۳۰). میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی به افزایش تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌ها مربوط می‌شود، ترکیبات نیتروژنه در گرهک‌های ریشه به شکل آلانتوئین و اسیدهای آلانتوئیک به برگ‌ها منتقل شده و در بیوسنتز کلروفیل و پروتئین‌های ضروری برای فتوسنتز استفاده می‌شوند (۳۱). افزایش میزان کلروفیل در اثر کاربرد قارچ مایکوریزا را می‌توان به افزایش جذب نیتروژن از خاک نسبت داد (۳۲). بیش‌ترین میزان غلظت رنگیزه

کمکی کارتنوئید با میانگین ۹/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ مربوط به تیمار تلقیح ریزوبیوم با بذر نخود و محلول‌پاشی دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار بود (جدول ۵). در آزمایش نوروزی شهری و همکاران (۲۰۲۱) نتایج نشان داد که دودآب‌های با غلظت بیش‌تر موجب کاهش محتوای کارتنوئیدی شدند (۳۳). در آزمایش فلاحت کارگنجی و همکاران (۲۰۲۲) مایکوریزا بر محتوای کارتنوئید اثر معنی‌دار گذاشت (۲۸). کاروتنوئیدها رنگیزه‌های کمکی هستند و در حفاظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها تأثیر دارند (۳٤). در زمان فتوسنتز، کارتنوئیدها به‌عنوان محافظ کلروفیل گیاه عمل می‌کنند به‌طوری‌که با رشد گیاه و ظهور رنگ نهایی همگام با کاهش کلروفیل، میزان کارتنوئید زیاد می‌شود و بیشترین مقدار آن‌ها را در سبزیجات می‌توان یافت (۳۵).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات محلول‌پاشی و مصرف خاک‌کاربرد دودآب بر ویژگی‌های ریشه و صفات فیزیولوژیک نخود.

Table 3. Means comparison of the effects of foliar and soil application of smoke water on root characteristics and physiological traits of chickpea.

قند محلول برگ Leaf sugar solution (mg/g)	کاتالاز Catalase ($U\ g^{-1}\ mg^{-1}$ Sol. Protein)	قطر ریشه Root diameter (mm)	تعداد گرهک Number of root nodules	دودآب Smoke water
242.38^{c}	155.23^{b}	3.70^{b}	17.5^{c}	شاهد Control
311.07^{b}	189.76^{a}	4.30^{ab}	24.33^{a}	محلول‌پاشی برگی دودآب در دو مرحله Foliar application of smoke water at two stages
281.69^{b}	172.51^{ab}	4.50^{a}	20.83^{b}	کاربرد خاکی دودآب-۲ لیتر Soil application of smoke water (2 lit/ha)
395.35^{a}	176.20^{a}	4.90^{a}	19.58^{bc}	کاربرد خاکی دودآب-٤ لیتر Soil application of smoke water (4 lit/ha)
13.971	17.846	0.8166	2.916	LSD 5%

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند

Averages with the same letters in each column are not significantly different from each other at the 5% probability level based on the least significant difference (LSD) test

محتوای پروتئین‌های محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت: برای محتوای پروتئین‌های محلول گیاه نخود در این آزمایش هیچ‌کدام از اثرات ساده و متقابل دودآب و کودهای بیولوژیک معنی‌دار نبود (جدول ۲). در آزمایش نوروزی‌شهری و همکاران (۲۰۲۱) مقدار پروتئین محلول تحت‌تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی دودآب قرار نگرفت (۳۳). برای آنزیم سوپراکسیددیسموتاز اثر ساده دودآب و اثر متقابل دودآب با کاربرد کودهای بیولوژیک معنی‌دار نشد. اما اثر ساده کاربرد کودهای بیولوژیک معنی‌دار شد

(جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح کودهای بیولوژیک نشان داد که تلقیح بذر نخود با ریزوبیوم با میانگین ۸۷/۱۵ میکروگرم در میلی‌گرم محلول پروتئین بیش‌ترین میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را داشت که تفاوت معنی‌داری با شاهد با میانگین ۷۵/۸۷ میکروگرم در میلی‌گرم محلول پروتئین نشان داد (جدول ٤). برای آنزیم پراکسیداز هیچ‌کدام از اثرات ساده و متقابل دودآب و کودهای بیولوژیک معنی‌دار نبود (جدول ۲). اما در آزمایش نوروزی شهری و همکاران (۲۰۲۱) سطوح محلول‌پاشی دودآب اثر معنی‌داری بر سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه ریحان داشت (۳۳). برای آنزیم کاتالاز هم اثر ساده دودآب و هم اثر ساده کودهای بیولوژیک معنی‌دار بود. اما اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۲). محلول‌پاشی دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار با میانگین ۱۸۹/۷٦ میکروگرم در میلی‌گرم محلول پروتئین بیش‌ترین میزان آنزیم کاتالاز را از خود نشان داد (جدول ۳). هم‌چنین بیش‌ترین میزان آنزیم کاتالاز با میانگین ۱۹۰/۷٤ میکروگرم در میلی‌گرم محلول پروتئین مربوط به تلقیح توأم ریزوبیوم و مایکوریزا با بذر نخود بود که نسبت به شاهد با میانگین ۱٥٤/۹۱ میکروگرم در میلی‌گرم محلول پروتئین تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد (جدول ٤). مطالعه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت کاربرد دودآب در مطالعات مختلف، نتایج متفاوت و حتی متناقضی را به‌همراه داشته است. کاربرد تیمارهای دودآب ۱:٥۰۰ (v/v) روی بذرهای لوبیا و ذرت نشان داد که این تیمارها موجب افزایش سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (۳٦). دلیل این کاهش نیز وجود تعداد زیاد فرم‌های ایزوآنزیمی پراکسیداز و مداخله در دامنه وسیعی از فعالیت‌های فیزیولوژیک عنوان شده است (۳۷).

قند محلول برگ: برای این صفت هم اثر ساده دودآب و هم اثر ساده کودهای بیولوژیک معنی‌دار بود. اما اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیش‌ترین میزان قند محلول برگ با میانگین ۳۹٥/۳٥ (میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه گیاهی) مربوط به کاربرد خاکی دودآب با غلظت ٤ لیتر در هکتار بود که نسبت به شاهد با میانگین ۲٤۲/۳۸ (میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه گیاهی) تفاوت معنی‌داری از خود نشان داد (جدول ۳). در سطوح کودهای بیولوژیک نیز بیش‌ترین میزان قند محلول برگ با میانگین ۳۰۰/٤۲ (میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه گیاهی) مربوط به تلقیح مایکوریزا با بذر نخود بود (جدول ٤). در آزمایش شیعتی و همکاران (۲۰۲۳) نتایج نشان داد که نمونه‌های تلقیح‌یافته با مایکوریزا و ریزوبیوم در مقایسه با نمونه‌های غیرهمزیست محتوای قند محلول بالاتری را نشان دادند (۳۸). افزایش میزان قند در این نمونه‌ها می‌تواند به‌دلیل افزایش نرخ فتوسنتز، بیان پروتئین‌های مربوط به متابولیسم قند مانند ساکارز فسفات سنتاز و اینورتاز و نیز تحریک بیان ژن‌های دخیل در گلیکولیز باشد (۳۹).

جدول ٤- مقایسه میانگین اثرات تلقیح کودهای مختلف بیولوژیک با بذر نخود بر ویژگی‌های ریشه و صفات فیزیولوژیک نخود.

Table 4. Means comparison of the effects of inoculation of different biological fertilizers with chickpea seeds on root characteristics and physiological traits.

کودهای بیولوژیک Biological fertilizer	تعداد گرهک Number of nodules	طول ریشه Root length (cm)	قطر ریشه Root diameter (mm)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (U g^{-1} mg^{-1} Sol. Protein)	کاتالاز Catalase (U g^{-1} mg^{-1} Sol. Protein)	قند محلول برگ Leaf sugar solution (mg/g)	محتوی نسبی آب برگ Relative leaf water content (%)
شاهد Control	11.7^{d}	15.3^{c}	3.6^{c}	0.8^{b}	75.87^{b}	154.91^{c}	258.65^{c}	50.2^{c}
مایکوریزا Mycorrhiza	16.9^{c}	17.2^{b}	4.3^{b}	1.2^{a}	85.80^{a}	171.08^{b}	300.42^{a}	67.1^{a}
ریزوبیوم Rhizobium	31.0^{a}	18.3^{b}	4.9^{a}	1.1^{a}	87.15^{a}	176.99^{b}	278.11^{b}	58.7^{b}
مایکوریزا + ریزوبیوم Rhizobium + Mycorrhiza	22.7^{b}	20.4^{a}	4.7^{a}	1.1^{a}	82.06^{a}	190.74^{a}	293.31^{ab}	64.4^{ab}
LSD5%	2.51	1.54	0.32	0.17	5.81	13.11	18.66	6.91

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند

Averages with the same letters in each column are not significantly different from each other at the 5% probability level based on the least significant difference (LSD) test

محتوی نسبی آب برگ: اساساً تعادل میان محتوای آب برگ و تعرق توسط صفت محتوی نسبی آب برگ نشان داده می‌شود (٤٠). اثر ساده دودآب و اثر متقابل دودآب با کودهای بیولوژیک بر محتوی نسبی آب برگ معنی‌دار نشد. اما اثر ساده کاربرد کودهای بیولوژیک معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح کودهای بیولوژیک نشان داد که تلقیح بذر نخود با قارچ مایکوریزا با میانگین ٦٧/١ درصد بیش‌ترین میزان محتوی نسبی آب برگ را داشت که تفاوت معنی‌داری با شاهد و ریزوبیوم به‌ترتیب با میانگین‌های ۵۰/۲ و ۵۸/۷ درصد از خود نشان داد (جدول ٤). در آزمایش اسکوئیان و همکاران (۲۰۲۲) اثر مایکوریزا بر محتوی نسبی آب برگ معنی‌دار بود (٤٠). در آزمایش جباری و همکاران (۲۰۱٤) بیش‌ترین محتوی نسبی آب از ترکیب دو تیمار کود زیستی ریزوبیومی به اندازه ۸۰/٤٤ به‌دست آمد (٤١). در آزمایش نخ‌زری‌مقدم و همکاران (۲۰۲۰) اثر ساده و متقابل قارچ مایکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر محتوی نسبی آب برگ گیاه سویا معنی‌دار گردید. احتمالاً مایکوریزا با تغییر مورفولوژی و توسعه سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ باعث می‌شود آب بیش‌تری توسط گیاه جذب شده و روابط آبی گیاه میزبان بهبود یابد (٤٢).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل محلول‌پاشی (برگی و خاکی) دودآب و تلقیح کودهای بیولوژیک با بذر نخود بر رنگیزه‌های فتوسنتزی.

Table 5. Means comparison of the effects of foliar spraying and inoculation of biological fertilizers with chickpea seeds on photosynthetic pigments.

دودآب Smoke Water	کودهای بیولوژیک Biological fertilizer	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) Carotenoids (mg/g fw)
شاهد Control	شاهد Control	6.567 ^{i}	3.5333 ^{f}
	مایکوریزا Mycorrhiza	10.933 ^{h}	3.9000 ^{f}
	ریزوبیوم Rhizobium	15.133 ^{g}	5.4000 ^{e}
	مایکوریزا + ریزوبیوم Mycorrhiza+ Rhizobium	16.500 ^{efg}	5.8667 ^{de}
محلول‌پاشی برگی دودآب در دو مرحله Foliar application of smoke water at two stages	شاهد Control	16.233 ^{fg}	5.9667 ^{de}
	مایکوریزا Mycorrhiza	26.00 ^{ab}	8.2667 ^{ab}
	ریزوبیوم Rhizobium	21.300 ^{cd}	9.2667 ^{a}
	مایکوریزا + ریزوبیوم Mycorrhiza+ Rhizobium	29.167 ^{a}	6.9333 ^{cd}
کاربرد خاکی دودآب- ۲ لیتر Soil application of smoke water (2 lit/ha)	شاهد Control	14.467 ^{g}	3.6333 ^{f}
	مایکوریزا Mycorrhiza	24.500 ^{bc}	4.000 ^{f}
	ریزوبیوم Rhizobium	19.300 ^{def}	5.8667 ^{de}
	مایکوریزا + ریزوبیوم Mycorrhiza+ Rhizobium	27.100 ^{ab}	6.4333 ^{de}
کاربرد خاکی دودآب- ٤ لیتر Soil application of smoke water (4 lit/ha)	شاهد Control	13.833 ^{gh}	5.6000 ^{e}
	مایکوریزا Mycorrhiza	17.333 ^{efg}	7.7667 ^{bc}
	ریزوبیوم Rhizobium	19.833 ^{de}	8.8667 ^{ab}
	مایکوریزا + ریزوبیوم Mycorrhiza+ Rhizobium	21.800 ^{cd}	6.6667 ^{cde}
LSD5%	-	3.5044	1.2761

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند

Averages with the same letters in each column are not significantly different from each other at the 5% probability level based on the least significant difference (LSD) test

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت تلقیح بذور نخود با کودهای بیولوژیک مایکوریزا و ریزوبیوم و هم‌چنین محلول‌پاشی گیاه با دودآب با غلظت یک لیتر در هکتار در دو مرحله رویشی و پیش از گلدهی می‌تواند صفات فیزیولوژیک گیاه نخود را در شرایط دیم بهبود ببخشد و از افت عملکرد آن جلوگیری کند.

سپاسگزاری

نتایج این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نویسنده نفر اول می‌باشد. از دانشگاه رازی به‌دلیل حمایت مالی و فراهم نمودن امکانات جهت اجرای این آزمایش سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Sabaghpour, H. (2002). Inheritance of stem colour in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Agricultural Sciences Nature Resour*ces, 9 (1), 74-81. [In Persian]
2. Agricultural Statistics. (2021-2022). Ministry of Agriculture Jihad, Crops, No1: p. 100. [In Persian]
3. Poustini, K., & Yazdi Samadi, B. (1992). Yield responses of chickpea cultivars to dry-land conditions. *Agriculture Science*, 23 (2), 11-17. [In Persian]
4. Khakbazpoor, A., Gholami, A., Baradaran Firoozabadi, M., & Malek Sabet, A. (2015). Inoculation study of the effect of mycorrhiza inoculation and use of rhizobium bacteria Vetiobacillus on cowpea growth. *The second national conference on the protection of natural resources and the environment*. [In Persian]
5. Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). Mycorrhizal Symbiosis, 3 Edition. Academic Press, London, UK, 787p. **doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X 5001-6.**
6. Amerian, M. R., Stewart, W. S., & Griffiths, H. (2001). Effect of two species of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, assimilation and leaf water relations in maize (*Zea mays* L.). *Aspects of Applied Biology*, 63, 71-76.
7. Rahmani, E. (2003). Collection and identification of rhizobium strains symbiotic with the most important pasture legumes. *Journal of Pasture and desert research*, 9 (4), 157-176. [In Persian]
8. Malaki, A., Khalesro, Sh., & Heidari, Gh. (2020). Evaluation of Quantitative and Qualitative Traits of Chickpea as Affected by Biofertilizer, Nitrogen, and Humic Acid in Dryland Condition. *Journal of Crop Production and Processing*, 11 (1), 83-94. **doi. 10.47176/ jcpp.11.1.35941.** [In Persian]
9. Bayat, L., & Askary, M. (2013). Inoculation effects of Rhizobium on the tolerance increase of Persian clover (*Trifolium resupinatum*) under SO_2 pollution. *Plant Process and Function*, 2 (3), 35-46. [In Persian]
10. Ashrafi, A., Zahedi, M., & Razmjoo, J. (2014). The effect of inoculation with rhizobium and mycorrhiza on the response of three alfalfa populations to salinity stress. *Journal of production and processing of agricultural and horticultural products*, 13 (4), 245-259. **doi. 20.1001.1.22518517.1393.4.13.22.0.** [In Persian]
11. Hazrati Gajlar, N., Jalilian, J., & Pirzad, A. (2019). Effect of Rhizobium and Mycorrhiza on Some Physiological Traits, Yield and Qualitative Characteristics of Pinto Bean in Deficit irrigation Condition. *Journal of Crop Production and Processing*, 9 (1), 93-109. **doi. 10.29252/jcpp.9.1.93.** [In Persian]
12. Gholami, B., Noroozi Shahri, F., Mondani, F., Jalali Honarmand, S., & Saeeidi, M. (2018). Evaluation of Some Growth Indices and Grain Yield in the wheat in Response to Urea Fertilizer and Smoke-Water. Crop Improvement. *Journal of Agriculture Crop Production*, 20 (3), 609-626. **doi.org/10.22059/ jci. 2018.250390.1929.** [In Persian]
13. Van Staden, J., Jager, A. K., Light, M. E., & Burger, B. V. (2004). Isolation of

the major germination cue from plant-derived smoke. *South African Journal of Botany*, 70, 654-659. **doi.org/10.1016/ S0256299(15)30206-4.**

14. Noroozi Shahri, F., Jalali Honarmand, S., & Saeidi, M. (2020). Evaluation of growth Phytohormones and different Concentrations of plant derived smoke applications on growth characteristics and biological yield of medicinal plants Lemon balm and Basil. *Journal of Agriculture Crop Production*, 20 (1), 89-102. **doi.org/10.22059/ jci.2019.280801.2211.** [In Persian]
15. Sparg, S. G., Kulkarni, M. G., & Van Staden, J. (2006). Aerosel smoke and smoke-water stimulation of seedling vigor of a commercial maize cultivar. *Crop Science*, 46 (3), 1336-1340. **doi.org/10.2135/cropsci2005.07-0324.**
16. Arnon, D. I. (1994). Copper enzymes in isolated chloroplast:polyphenol-oxidase in Beta Vulgaris. Plant Physiology, 24, 1-15. **doi. 10.1104/pp.24.1.1.**
17. Ashraf, M. Y., Azmi, A. R., Khan, A. H., & Ala, S. A. (1994). Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 16, 185-190.
18. Schonfeld, M. A. R. C., Johnson, B. F., & Mornhinwey, D. W. (1998). Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. *Crop Sciences*, 28, 351-526.
19. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye binding. *Annals of Biochemistry*, 72, 248-254.
20. Chance, B., & Maehly, A. C. (1995). Assay of catalase and Kaplan, N. O. (eds). Methods in enzymology Val. 2. Academic Press Inc. New York, Pp: 764-765. **doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8.**
21. Sinha, A. K. (1972). Colorimetric assay of Catalase. *Analytical Biochemistry*, 47 (2), 389-394. **doi. 10.1016/0003-2697 (72)90132-7.**
22. Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1976). Superoxide dismutases: improved assays and an assay predictable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
23. AOAC. (1995). Officinal method of analysis (16th), Arlington. VA., USA: AOAC.
24. Damavandi, M., Saboori, H., Biabani. A., Raeisi. S., & Arzanesh, M. H. (2016). Effect of mycorrhizal fungus and Brady rhizobium japonicas bacteria on the growth characteristics and yield of soybean at different levels of phosphorus fertilizer. *Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology*, 3 (1), 139-159. [In Persian]
25. Moradi, S., Besharati, H., Fazie Asl, V., & Shakhi, J. (2016). Transformation of morphological characteristics of chickpea root and shoot under drought stress and treatments of arbuscular root fungus and rhizobium. *Science and Techniques of Greenhouse crops*, 7 (26), 179-191. **doi. 10.18869/acadpub.ejgcst.8.2.13.** [In Persian]
26. Arshadi, M. J., Parsa, M., Lakzian, A., & Kafi, M. (2021). Evaluation of root traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under treatments of rhizobium, arbuscular mycorrhiza and pseudo-endomycorrhiza on conditions of sterilized and non-sterile soil. *Journal of Crop Science Research in Arid Regions*, 2 (2), 241-254. **doi. 10.22034/ csrar. 2021.268645.1080.** [In Persian]
27. Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Plant Physiology. 4th Edition, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 690p.
28. Falahat Karganji, M., Visani, M., & Dianat, M. (2022). The effect of the application of mycorrhizal fungi species on the growth and physiological characteristics of chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). Journal of Crops Improvement, 24 (1), 173-188. **doi. 10.22059/jci.2021.327793.2588.** [In Persian]
29. Sohrabi, Y., Visani, V., Heydari, Gh., Mohamadi, Kh., & Ghasemi Golazani, K. (2019). The effect of several species of mycorrhizal fungi on the growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12 (2), 507-524.

doi.org/10.22077/escs.2018.1378.1295. [In Persian]

30. Seyed Sharifi, R., & Seyed Sharifi, R. (2020). Effect of irrigation withholding in reproductive stages and methanol and biofertilizer application on yield and some biochemical traits of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 13 (3), 857-869. **doi.org/10.22077/escs.2020.2216.1558.** [In Persian]
31. Bashan, Y., Bustillos, J. J., Leyva, L. A., Hernandez, J. P., & Bacilio, M. (2006). Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by Azospirilum brasilense. *Biology and Fertility of Soils*, 42, 279-285. **doi.org/10.1007/s00374-005-0025-x.**
32. Tang, M., Chen, H., Huang, G. C., & Tain, Z. Q. (2009). AM fungi effects on the growth and physiology of Zea mays L. seedlings under diesel stress. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 936-940. **doi.10.1016/j.soilbio.2008.11.007.**
33. Noroozi Shahri, F., Jalali Honarmand, S., Saeidi, M., & Mondani, F. (2021). Evaluation of some biochemical characteristics of medicinal Plant basil (*Ocimum basilicum* L.) under the application of growth Phytohormones and Phytohormones-like. *Plant Process and Function*, 10 (42), 89-102. **doi. 20. 1001. 1. 23222727. 1400.10.42.19.1.** [In Persian]
34. Li, Q. F., Ma, C. C., & Shang, Q. L. (2007). Effects of silicon on photosynthesis and antioxidative enzymes of maize under drought stress. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 18, 531-536.
35. Deman, J. M., Finley, J. W., Jeffrey Hurst, W., & Yong Lee, Ch. (1999). Principles of Food Chemistry (4th ed). Aspen publishers, Inc. Maryland, 577p.
36. Sunmonu, T., Kulkarni, M., & Van Staden, J. (2016). Smoke-water, karrikinolide and gibberellic acid stimulate growth in bean and maize seedlings by efficient starch mobilization and suppression of oxidative stress. *South African Journal of Botany*, 201, 4-11. **doi.org/10.1016/ j.sajb.2015.06.015.**
37. Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., & Dunand, C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24, 255-265. **doi. 10.1007/s00299-005-0972-6.**
38. Shiati, Sh., Khara, J., Hosseini Sarghein, S., & Hassanzade Ghorttapeh, A. (2023). Effects of mycorrizal and rhizobium inoculation on some physiological and biochemical traits of soybean under copper toxicity. *Plant productions*, 45 (4), 603-615. **doi.org/ 10.22055/ppd.2023.41415.204.**
39. Hu, Y., Xie, W., & Chen, B. (2020). Arbuscular mycorrhiza improved drought tolerance of maize seedlings by altering photosystem II efficiency and the levels of key metabolites. *Chemical and biological technologies in agriculture*, 7 (20), 1-14. **doi.org/ 10.1186/s40538-020-00186-4.**
40. Oskooian, A., Nezami, A., Kafi, M., Bagheri, A. R., & Lakzian, A. (2022). The ability of arbuscular mycorrhizal and endophyte species to tolerate salinity in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Environmental stresses in agricultural sciences*, 15 (1), 215-230. **doi.org/ 10. 22077/escs.2020.3572.1877.** [In Persian]
41. Jabari, F., & Khaleghnejad, V. (2014). investigating the effect of some biofertilizers on water relations, chlorophyll content and gas exchange of chickpea plants In rainfed and fallow farming. *Journal of Iranian Agricultural Plants*, 45 (1), 53-64. **doi.10.22059/ IJFCS.2014.51026.** [In Persian]
42. Nakhzari Moghaddam, A., Samsami, N., Rahemi Karizaki, A., & Gholinezhad, E. (2020). Effect of irrigation on physiological traits and seed yield of soybean under inoculation with mycorrhiza fungi and rhizobium bacteria. *Environmental stresses in Crop Sciences*, 13 (2), 413-423**. doi. 10.22069/ ejcp.2019.15472.2153.** [In Persian]