



بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر گره‌زایی و رشد سویا (*Glycine max L.*) تحت تنش کم آبی بذر

معصومه تاجیک خاوه^{۱*}، ایرج اله‌دادی^۲، جهانفر دانشیان^۳ و امید آرمند پیشه^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۱/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۴/۰۳

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر قدرت رویش بذرهای حاصل از تنش کم‌آبی سویا (*Glycine max L.*) و ویژگی‌های مرتبط، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۶ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کود بیولوژیک (تلقیح بذر با *Bradyrhizobium japonicum*، تلقیح توأم با *B. japonicum* و *Pseudomonas fluorescens* و تلقیح توأم با *B. japonicum* و *Glomus mosseae*)، رقم (ZaltaZalha و لاین Clark×Hobbit) و تنش کم آبی [آبیاری پس از ۵۰ (آبیاری مطلوب)، ۱۰۰ (تنش متوسط) و ۱۵۰ (تنش شدید) میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A در مزرعه گیاه مادری] بودند. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی تأثیر منفی بر کیفیت بذر داشت و موجب کاهش قابلیت ظهور گیاهچه، متوسط ظهور گیاهچه روزانه، وزن خشک ساقه، برگ و ریشه و تعداد گره شد. در مقایسه ارقام، رقم زالتازالها با وزن خشک ساقه و تعداد برگ بیشتر، رقم برتر بود. کاربرد کود بیولوژیک بر قطر ساقه، وزن خشک ساقه، برگ و ریشه و تعداد برگ و گره مؤثر بود و تلقیح توأم بذر با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش صفات مذکور شد. همچنین کاربرد کود بیولوژیک در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر وزن خشک ساقه ارقام مؤثر بود و تلقیح توأم بذر با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش وزن خشک ساقه شد.

واژه‌های کلیدی: قابلیت ظهور گیاهچه، کیفیت بذر، گلوموس موسه

مقدمه

بدست آمده است. راندمان تولید در هکتار سویای آبی کشور ۲۶۱۵ کیلوگرم و عملکرد دیم ۱۹۴۷ کیلوگرم بوده است (Anonymous, 2005). وقوع تنش کم آبی در طول رشد گیاه، مخصوصاً در مراحل زایشی در درجه اول از عملکرد گیاه و نهایتاً قوه نامیه بذرهای حاصل می‌کاهد. دورنباس و همکاران (Dorenbos et al., 1989) گزارش کردند که بین وزن بذر با جوانه‌زنی و بنیه بذر ارتباطی وجود دارد، بطوریکه با کاهش وزن بذر در اثر تنش، بنیه بذر کاهش می‌یابد. کیفیت و کمیت بذر به عوامل متعددی مانند خاک، اقلیم و اجرای عملیات زراعی در دوره رشد و نمو گیاه مادری از کاشت تا برداشت بستگی دارد. در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک که کشور ما را نیز در بر می‌گیرد، تنش خشکی یکی از عوامل اصلی کاهش کیفیت و کمیت بذر گیاهان می‌باشد. در آزمایشی مشخص گردید تنش خشکی در مرحله نمو بذر سویا موجب کاهش بنیه بذر شد (Stankova & Stankov, 2001). بنابراین استفاده از راهبردهایی برای کاهش اثر منفی تنش خشکی بر کیفیت بذر از اهمیت خاصی برخوردار است. خاک یک سیستم پیچیده است که توسط موجودات کوچک مختلف

سویا (*Glycine max L.*) یکی از مهمترین دانه‌های روغنی در جهان و ایران می‌باشد. در حال حاضر کشور بیش از ۸۰ درصد نیاز به روغن را از خارج تامین می‌نماید و دستیابی به خود کفائی در تامین روغن مورد نیاز کشور از اهداف مهم توسعه کشاورزی ایران می‌باشد. سطح زیر کشت سویا در ایران در سال زراعی ۸۴-۱۳۸۳ حدود ۸۲ هزار هکتار برآورد شد که متعلق به استان‌های آذربایجان شرقی، اردبیل، گلستان، گیلان، لرستان، مازندران و همدان می‌باشد که حدود ۶۸/۸۳ درصد آن آبی و ۳۱/۱۷ درصد نیز به صورت دیم بوده است. میزان تولید سویای کشور حدود ۱۹۸ هزار تنش برآورد شده که ۷۴/۷۹ درصد آن از کشت آبی و ۲۵/۲۱ درصد مابقی از کشت دیم

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، دانشیار موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

(E-mail: tajik@ut.ac.ir)

(*- نویسنده مسئول)

ژاپونیکوم، تلقیح توأم بذرها با باکتری‌های برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم و سودوموناس فلورسنس و تلقیح توأم بذرها با باکتری برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم و قارچ گلوموس موسه، تیمار رقم شامل رقم زالتازالها و لاین Clark×Hobbit و عامل تنش کم‌آبی ایجاد شده در گیاه مادری در سه سطح شامل آبیاری پس از ۵۰ (آبیاری مطلوب)، ۱۰۰ (تنش متوسط) و ۱۵۰ (تنش شدید) میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A بودند. برای اجرای این آزمون، تعداد ۱۲ بذر به صورت تصادفی از هر یک از سطوح تنش کم‌آبی انتخاب شد و پس از تلقیح با کودهای بیولوژیک، در گلدان‌های چهار کیلوگرم که حاوی ماسه شسته شده بود کشت گردید. جهت رفع کمبود عناصر غذایی گلدان‌ها، از محلول غذایی بدون نیتروژن استفاده گردید (Beck et al., 1993). برای تهیه ۲۰ لیتر از محلول غذایی بدون نیتروژن، ۱۰ میلی‌لیتر از هر استوک را به ۱۰ لیتر آب مقطر افزوده و پس از به هم زدن، ۱۰ لیتر آب مقطر دیگر به آن اضافه شد و توسط NaOH یک نرمال، pH محلول بین ۶/۶-۶/۸ تنظیم گردید. فرمول تهیه این محلول غذایی در جدول ۱ آمده است. هر گلدان به صورت یک روز در میان با ۲۰۰ میلی‌لیتر از این محلول غذایی آبیاری شد.

جدول ۱- ترکیبات غذایی بدون نیتروژن
Table 1- Nutrient component of free Nitrogen

نوع محلول Stock type	ترکیب Component	مقدار (گرم بر لیتر) Amount (g.l ⁻¹)
1	کلرید کلسیم دو آب CaCl ₂ . 2H ₂ O	294.1
2	فسفات پتاسیم KH ₂ PO ₄	136.1
3	سولفات منیزیم هفت آب MgSO ₄ . 7H ₂ O	123.3
	سولفات پتاسیم K ₂ SO ₄	87.0
	سولفات منگنز MnSO ₄ . H ₂ O	0.338
	بورات H ₃ BO ₃	0.247
4	سولفات روی هفت آب ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.288
	سولفات مس پنج آب CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.100
	مولیبدات سدیم دو آب NaMoO ₂ . 2H ₂ O	0.048
	سولفات کبالت هفت آب CoSO ₄ . 7H ₂ O	0.056
5	سیترات آهن Fe Citrate ⁺	5.4

شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها کلونیزه شده است. خاک جایی است که میکروارگانیسم‌ها در حضور ریشه‌های گیاه که ریزوسفر نامیده می‌شود وجود دارند. باکتری‌ها (که نوع غالب میکروارگانیسم‌های خاک می‌باشند) و در ریزوسفر رشد می‌کنند ریزوباکتری‌ها نامیده می‌شوند و باکتری‌های ریزوسفری که سبب بعضی مکانیسم‌های مستقیم یا قابلیت القای رشد گیاه هستند به عنوان باکتری‌های ریزوسفری افزایش یافته رشد گیاه نامیده می‌شوند (Kloepper et al., 1989). آنهایی که باعث افزایش رشد گیاه از طریق غیرمستقیم می‌شود به عنوان کنترل زیستی باکتری‌های افزایش یافته رشد گیاه نامیده می‌شوند. تحریک مستقیم گیاه وقتی انجام می‌شود که باکتری‌های افزایش یافته رشد گیاه ترکیباتی فراهم کند که بر متابولیسم گیاه یا وقتی آنها تسهیل می‌کنند دستیابی گیاه به عناصر غذایی غیرقابل دسترس از خاک. در باکتری‌های افزایش یافته رشد مهمترین اثر فرآیندهای تحریک کنندگی رشد گیاه در کنار تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی یا ترکیبات تنظیم کننده رشد گیاه می‌باشد. مثال‌ها شامل تولید ایندول ۳-استیک اسید توسط *ازتوباکتر دی‌آزوتروفوس* و *هرباسپیریوم سرویدایسه*: زه‌آتین و اتیلن توسط سویه‌های *آزوسپیریوم*: اسید جیبرلیک توسط *آزوسپیریوم لیبوفروم* سویه op33 و اسید آبسزیک توسط *آزوسپیریوم برازیلیس* سویه‌های cal و AZ39 (Perig et al., 2005). در شرایط کم‌آبی با توجه به اینکه گیاه میزان مواد پرورده کمتری را کسب می‌کند در نتیجه اندوخته کمتری در اختیار بذرها قرار گرفته و همچنین در صورتی که کم‌آبی در زمان پر شدن دانه‌ها باشد تأثیر منفی بر قوه نامیه و بنیه بذر خواهد گذاشت. از طرفی با توجه به توانایی‌هایی که هر کدام از باکتری و قارچ دارند، لذا بررسی اثر آنها به صورت جداگانه و ترکیبی و همچنین اثر افزایشی آنها جاز اهمیت است. حال نوآوری در این بررسی بدین صورت در نظر گرفته شد که آیا باکتری و قارچ می‌توانند قوه نامیه و بنیه بذر کاهش یافته را ارتقاء دهند یا خیر و همچنین چه تأثیری بر میزان گره‌های ریشه که تثبیت کننده نیتروژن هستند دارد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات تلقیح باکتری‌های برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم، سودوموناس فلورسنس و قارچ گلوموس موسه بر خصوصیات کیفی بذرها حاصل از تنش کم‌آبی یک رقم و یک لاین سویا در شرایط کنترل شده، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در گلخانه پردیس ابوریحان دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۶ انجام شد. بدین منظور از بذرها به دست آمده از گیاهانی که تحت تأثیر سه سطح تنش کم‌آبی قرار گرفته بودند استفاده شد. بنابراین، تیمارها عبارت از فاکتور کود بیولوژیک در سه سطح شامل تلقیح بذرها با باکتری برادی‌ریزوبیوم

جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه گردید و همچنین باکتری تأثیری بر ظهور گیاهچه نداشت، ولی پس از رویش وزن خشک برگ و ساقه، سطح برگ و شاخص بنیه گیاهچه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد.

اثر تنش بر متوسط ظهور گیاهچه روزانه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲) و با افزایش شدت تنش از متوسط ظهور گیاهچه روزانه کاسته شد (جدول ۳). بذرها سویای تولید شده در شرایط تنش خشکی دارای کیفیت پایین‌تری هستند. در نتیجه این بذرها دیرتر اقدام به جوانه‌زنی کرده و در این شرایط، سرعت ظهور گیاهچه روزانه کاهش می‌یابد (FAS, 2005). هادی و همکاران (Hadi et al., 2009) در بررسی که روی بذر سویا تحت تنش خشکی و تلقیح شده با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم و ازتوباکتر کروکوکوم انجام دادند نتیجه گرفتند که تنش خشکی باعث کاهش سرعت و عدم یکنواختی جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه گردید و همچنین باکتری تأثیری بر ظهور گیاهچه نداشت، ولی پس از رویش وزن خشک برگ و ساقه، سطح برگ و شاخص بنیه گیاهچه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد.

اثر کود بیولوژیک بر قطر ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲)، به طوری که تلقیح توأم بذرها با برادی ریزوبیوم و گلوموس قطر ساقه را افزایش داد (جدول ۳). در آزمایشی، تلقیح سویا با قارچ میکوریزی آرباسکولار (*Glomus fasciculatum*) موجب افزایش قطر ساقه گردید (Khan, 2006). اثر تنش و رقم بر قطر ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و رقم بر قطر ساقه نشان داد که در شرایط آبیاری مطلوب و تنش شدید، ارقام از نظر این صفت با هم تفاوتی نداشتند در صورتی که در شرایط تنش متوسط، رقم زالتازالها دارای قطر ساقه بیشتری بود (جدول ۴).

اثر تنش، رقم و کود بیولوژیک بر وزن خشک ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). در این خصوص، با افزایش شدت تنش از وزن خشک ساقه کاسته شد (جدول ۳). محققین طی آزمایشی روی سویا، نتیجه گرفتند که میزان کلسیم در بذرها حاصل از آبیاری مطلوب سه برابر میزان کلسیم در بذرهایی است که تحت تنش خشکی بودند (Stankova & Stankov, 2001) و با استناد به گزارشات موجود مبنی بر نقش مهم کلسیم در سنتز دیواره‌های جدید و نمو سلول‌های تقسیم شده (Thiagarajan & Ahmad, 1993)، می‌توان علت کاهش وزن خشک ساقه رشد یافته از بذرها حاصل از تنش کم آبی را همین مسئله دانست. در مقایسه ارقام نیز، رقم زالتازالها دارای وزن خشک ساقه بیشتری بود، همچنین تلقیح توأم بذرها با برادی ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش وزن خشک ساقه شد و کمترین وزن خشک ساقه از کاربرد برادی ریزوبیوم به تنهایی حاصل شد (جدول ۴). در آزمایشی اثر باکتری برادی ریزوبیوم و که قارچ میکوریزا و زیکولار آرباسکولار روی سویا مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که قارچ میکوریزا به طور بسیار معنی‌داری موجب افزایش وزن خشک ساقه شد (Aliasgharzad et al., 2006). اثر

به منظور تعیین قابلیت ظهور گیاهچه و ویژگی‌های مرتبط، تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده در سطح خاک تا ۱۴ روز پس از کاشت یادداشت‌برداری شد و داده‌های حاصل برای محاسبه شاخص‌های زیر مورد استفاده قرار گرفتند. شاخص ظهور گیاهچه در مزرعه^۱ (FEI) با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Ram et al., 1989).

$$FEI = \frac{F}{P} \times 100 \quad (1)$$

که در این معادله، F: ظهور نهایی گیاهچه در مزرعه و P: قوه نامیه بذر^۲ (به صورت درصد) می‌باشد. همچنین، سرعت ظهور گیاهچه‌ها در مزرعه^۳ (گیاهچه در روز) با در نظر گرفتن تاریخ نخستین آبیاری به عنوان تاریخ کاشت و با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

$$FER = \frac{FFE}{D} \quad (2)$$

که در این معادله، FFE: ظهور نهایی گیاهچه (درصد) و D: تعداد روز از کاشت تا پایان یادداشت برداری می‌باشد. پس از گذشت ۶۵ روز از زمان کاشت، جهت بررسی تشکیل گره روی ریشه‌ها گلدان‌ها تخلیه شدند و ریشه‌ها مورد شستشو قرار گرفتند و تعداد گره‌ها شمارش شد. همچنین شاخص‌هایی نظیر تعداد برگ و قطر ساقه (در ناحیه بین گره اول و دوم با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر) و وزن خشک ریشه، ساقه و برگ (پس از خشک کردن در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) با استفاده از ترازوی دقیق بر حسب گرم اندازه‌گیری شدند. در پایان، داده‌های حاصل توسط برنامه نرم‌افزاری SAS (ver 11.0) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر تنش کم‌آبی بر قابلیت ظهور گیاهچه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲) و با افزایش شدت تنش، از قابلیت ظهور گیاهچه کاسته شد (جدول ۳). در آزمایشی تأثیر تنش خشکی در مرحله پرشدن بذرها سویا بر درصد ظهور گیاهچه مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که تنش باعث کاهش ظهور گیاهچه شد (Wasule et al., 2002). هادی و همکاران (Hadi et al., 2009) در بررسی که روی بذر سویا تحت تنش خشکی و تلقیح شده با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم و ازتوباکتر کروکوکوم انجام دادند نتیجه گرفتند که تنش خشکی باعث کاهش سرعت و عدم یکنواختی

- 1- Field emergence index
- 2- Seed viability
- 3- Field emergence rate

برادی‌ریزوبیوم و گلوموس و کمترین آن از کاربرد برادی‌ریزوبیوم به تنهایی حاصل شد (جدول ۳) که این نتایج با نتایج گروهی از محققین مطابقت داشت (Diop et al., 2000; Diar kianmehr et al., 2000; Hadi et al., 2009). هادی و همکاران (2003; Khan, 2006) گزارش کردند در سطوح مختلف آبیاری، تیمارهای تلقیح با باکتری از ارتفاع، وزن خشک برگ، ساقه، گیاهچه و بنه بیشتری نسبت به عدم تلقیح برخوردار بودند. تلقیح بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید با برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم وزن خشک ریشه‌چه را نسبت عدم تلقیح افزایش داد. بنابراین کاربرد باکتری باعث افزایش بنه گیاهچه بذرهای حاصل از شرایط آبیاری محدود گردید. بنابراین با توجه به نتیجه این آزمایش و بررسی‌های انجام شده مشخص می‌شود که حضور توأم باکتری برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم به همراه یک باکتری یا قارچ دیگر اثر افزایشی داشته و با توجه به شرایطی که برای گیاه فراهم می‌کنند که در نهایت باعث افزایش وزن خشک ریشه می‌شود. اثر تنش و کود بیولوژیک بر تعداد گره معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). در شرایط تنش شدید، تعداد گره کاهش یافت و کمترین تعداد گره از کاربرد برادی‌ریزوبیوم به تنهایی حاصل شد در صورتی که تلقیح توأم بذرهای با برادی‌ریزوبیوم به همراه سودوموناس یا گلوموس، تعداد گره را افزایش داد (جدول ۳). در آزمایشی روی سویا، اثرات متقابل بین باکتری همزیست برادی‌ریزوبیوم و باکتری سودوموناس پوتیلا مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که تلقیح توأم بذرهای با باکتری‌های مذکور به طور معنی‌داری گره‌زایی ریشه را افزایش داد (Saha et al., 1990). همچنین در آزمایشی همزیستی سه گانه سویا، برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم و قارچ میکوریزی آرباسکولار مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که همزیستی سه جانبه منجر به افزایش گره‌زایی شد (Asadi Rahmani, 1999). محققین علت این امر را در گیاهان میکوریزی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه دانستند (Albrecht et al., 1999). اثر متقابل تنش و رقم بر تعداد گره معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و رقم بر این صفت نشان داد که در شرایط آبیاری مطلوب، ارقام از نظر این صفت با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند، ولی در شرایط تنش متوسط، لاین Clark×Hobbit و در شرایط تنش شدید، رقم زالتالها تعداد گره بیشتری داشت (جدول ۴). اثر متقابل تنش و کود بر تعداد گره بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و کود نشان داد که در شرایط آبیاری مطلوب و تنش متوسط، تلقیح توأم بذرهای با برادی‌ریزوبیوم و سودوموناس و در شرایط تنش شدید، تلقیح توأم بذرهای با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش تعداد گره شد (جدول ۴). در آزمایشی، تأثیر باکتری سودوموناس استریانا بر همزیستی برادی‌ریزوبیوم با سویا مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که تلقیح توأم دو باکتری به طور معنی‌داری گره‌زایی را افزایش داد (Zaidi, 2003).

متقابل تنش و کود بیولوژیک بر وزن خشک ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و کود بیولوژیک بر وزن خشک ساقه نشان داد که در سطوح مختلف تنش کم‌آبی، تلقیح توأم بذرهای با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش وزن خشک ساقه شد (جدول ۴). اثر متقابل رقم و کود بر وزن خشک ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و کود بر این صفت نشان داد که تلقیح توأم بذرهای ارقام با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش وزن خشک ساقه گردید (جدول ۴). محققین گزارش کردند تلقیح بذرهای تاجریزی (*Solanum nigrum* L. با قارچ میکوریزی آرباسکولار (*Glomus versiforme* و *G. mosseae aggregatum*) به طور بسیار معنی‌داری وزن خشک ساقه را افزایش داد (Dorenbos et al., 1989). اثر متقابل سه‌گانه تنش، رقم و کود بیولوژیک بر وزن خشک ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲). به طوری که در سطوح مختلف تنش کم‌آبی، تلقیح توأم بذرهای ارقام با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش وزن خشک ساقه شد (جدول ۵). محققین نیز گزارش کردند که تلقیح سویا با قارچ میکوریزی آرباسکولار، وزن خشک ساقه را افزایش داد (Khan, 2006).

اثر رقم و کود بیولوژیک بر تعداد برگ بسیار معنی‌دار ($p \leq 0.01$) بود (جدول ۲)، به طوری که رقم زالتالها برگ بیشتری تولید نمود و تلقیح توأم بذرهای با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس موجب افزایش تعداد برگ شد (جدول ۳). در آزمایشی اثر همزیستی قارچ میکوریزی و زیکولار آرباسکولار بر رشد گیاه بروموس مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که تلقیح گیاه بروموس با قارچ میکوریزا، تعداد برگ در هر گیاه را افزایش داد (Diop et al., 2003).

اثر تنش کم آبی و کود بیولوژیک بر وزن خشک برگ بسیار معنی‌دار ($p \leq 0.01$) بود (جدول ۲)، به طوری که با افزایش شدت تنش از وزن خشک برگ کاسته شد (جدول ۳). کاهش وزن خشک برگ به موازات تنش کم‌آبی را می‌توان به اختلال در فتوسنتز در گیاه مادری به واسطه کمبود رطوبت خاک و کاهش تولید مواد فتوسنتزی جهت ارائه به بذرهای در حال رشد و نهایتاً عدم دستیابی به ذخایر کافی بذرهای نسبت داد. تلقیح توأم بذرهای با برادی‌ریزوبیوم و گلوموس صفت مذکور را افزایش داد (جدول ۳) که در آزمایشی علت این امر، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه توسط قارچ میکوریزی آرباسکولار بیان شد (Allen, 2003). همچنین محققین دیگری افزایش فتوسنتز گیاهان میکوریزی به انواع غیرمیکوریزی را علت این عامل دانستند (Antunes, 2004).

اثر تنش بر وزن خشک ریشه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲)، به طوری که با افزایش شدت تنش از وزن خشک ریشه کاسته شد (جدول ۲). اثر کود بیولوژیک بر وزن خشک ریشه معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود (جدول ۲) و بیشترین وزن خشک ریشه از تلقیح توأم بذرهای با

Table 2- Analysis of variance for determined characteristics of soybean under water deficit stress, cultivar and biofertilizer

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	قابلیت ظهور گیاهچه Final emergence index	متوسط ظهور گیاهچه روزانه Maen daily emergence	قطر ساقه Stem diameter	تعداد برگ Leaf number	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	تعداد گره Node number
تنش کم آبی Water deficit stress	2	547.00*	2.79*	0.06	0.31	0.028**	0.103**	0.077*	32.00**
رقم Cultivar	1	1.00	0.01	0.13	0.93**	0.018**	0.012	0.001	7.00
تنش × رقم Stress × Cultivar	2	169.00	0.86	0.13*	0.05	0.001	0.010	0.017	33.00**
کود بیولوژیک Biofertilizer	2	185.00	0.95	0.14*	0.65**	0.030**	0.080**	0.140**	38.00**
تنش × کود بیولوژیک Stress × Biofertilizer	4	229.00	1.17	0.03	0.06	0.003**	0.008	0.009	28.00**
رقم × کود بیولوژیک Cultivar × Biofertilizer	2	120.00	0.61	0.03	0.08	0.010**	0.019	0.012	19.00**
تنش × رقم × کود بیولوژیک Stress × Cultivar × Biofertilizer	4	62.00	0.31	0.03	0.07	0.003*	0.001	0.003	5.00
خطا Error	54	148.00	0.72	0.03	0.13	0.001	0.006	0.024	3.00
ضریب تغییرات (%) C.V (%)		16.12	16.12	6.43	8.05	5.75	13.99	26.56	18.49

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشند.
* and ** are significant difference at 5 and 1% levels probability, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه تیمارها بر صفات مورد بررسی سویا
Table 4- Mean comparison of the triple interaction effects of treatments on determined characteristics of soybean

رقم Cultivar	تنش کم آبی Water deficit stress (mm)	کود بیولوژیک Biofertilizer	تعداد گیاهچه ظهور Seedling emergence	قابلیت ظهور Emergence index (%)	میانگین روزانه ظهور Maen daily emergence (seedling.d ⁻¹)	تعداد برگ در بوته Leaf number	ساقه خشک (گرم) Stem dry weight (g)	قطر ساقه (میلی‌متر) Stem diameter r (mm)	وزن خشک برگ (گرم) Leaf dry weight (g)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	تعداد گره در بوته Node number
Zalta Zalha	50	Zalta Zalha	82.00 a*	5.90 a	4.80 ab	0.56 a	2.88 a	0.62 ab	0.63 ab	10.80 a	
		Clark×Hobbit	77.00 ab	5.50 ab	4.50 a	0.52 b	2.78 ab	0.64 a	0.66 a	9.30 abc	
		Zalta Zalha	74.00 ab	5.30 ab	4.60 ab	0.52 b	2.90 a	0.61 ab	0.57 ab	8.50 c	
	100	Clark×Hobbit	79.00 ab	5.70 ab	4.50 bc	0.48 c	2.68 b	0.55 bc	0.59 ab	10.50 c	
		Zalta Zalha	71.00 b	5.10 b	4.50 cd	0.48 c	2.70 b	0.52 cd	0.57 ab	9.10 bc	
		Clark×Hobbit	69.00 b	5.00 b	4.30 d	0.46 c	2.77 ab	0.48 d	0.50 b	6.60 d	
Clark×Hobbit	50	<i>B. japonicum</i>	80.00 a	5.70 a	4.40 b	0.48 cd	2.73 ab	0.55 b	0.55 abc	9.40 b	
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	81.00 a	5.80 a	4.60 a	0.56 ab	2.88 a	0.63 a	0.68 a	12.10 a	
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	77.00 a	5.50 a	4.80 a	0.57 a	2.88 a	0.70 a	0.71 a	8.60 bc	
	100	<i>B. japonicum</i>	74.00 ab	5.30 ab	4.50 b	0.47 cde	2.72 ab	0.55 b	0.51 bc	7.00 c	
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	74.00 ab	5.30 ab	4.50 b	0.49 c	2.74 ab	0.53 b	0.56 abc	11.60 a	
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	78.00 a	5.60 a	4.70 a	0.54 b	2.92 a	0.66 a	0.67 ab	9.9 b	
150	<i>B. japonicum</i>	71.00 ab	5.10 ab	4.30 b	0.45 e	2.66 b	0.48 b	0.48 c	6.90 c		
	<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	79.00 a	5.70 a	4.30 b	0.46 de	2.77 ab	0.47 b	0.50 bc	6.9 c		
	<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	63.00 b	4.50 b	4.60 b	0.50 c	2.76 ab	0.55 b	0.62 abc	9.80 b		
Zalta Zalha	50	<i>B. japonicum</i>	73.00 a	5.20 a	4.50 bc	0.46 c	2.71 b	0.53 bc	0.52 b	9.10 a	
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	79.00 a	5.70 a	4.50 ab	0.52 b	2.88 a	0.59 ab	0.60 ab	10.10 a	
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	74.00 a	5.30 a	4.80 a	0.57 a	2.88 a	0.62 a	0.65 ab	9.20 a	
	100	<i>B. japonicum</i>	78.00 a	5.60 a	4.20 c	0.47 c	2.69 b	0.52 c	0.51 b	6.40 b	
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	77.00 a	5.60 a	4.40 c	0.48 c	2.72 b	0.50 c	0.56 b	10.30 a	
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	71.00 a	5.10 a	4.60 a	0.51 b	2.82 ab	0.65 a	0.69 a	9.70 a	

* Means in each column and for each treatment followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using DMRT test.
* در هر ستون سطوح تیماری که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۵ - مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه تیمارها بر صفات مورد بررسی سویا

Table 5- Mean comparison of the twofold interaction effects of treatments on determined characteristics of soybean

تنش کم آبی Water deficit stress (mm)	رقم Cultivar	کود بیولوژیک Biofertilizer	قابلیت ظهور Final emergence (درصد)	میانگین ظهور روزانه (گیاهچه/روز)	قطر ساقه (میلی متر)	تعداد برگ Leaf number	وزن خشک ساقه (گرم)	وزن خشک برگ (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	تعداد گره Node number
50	Zalta Zalha	<i>B. japonicum</i>	79.00 abc*	5.70 abc	2.75 a	4.50 abc	0.48 d-g	0.53 e-f	0.55 abc	11.30 ab
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	88.00 a	6.30 a	2.92 ab	4.70 ab	0.57 b	0.66 ab	0.67 abc	12.30 a
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	79.00 abc	5.70 abc	2.98 d-g	5.00 a	0.63 a	0.66 ab	0.67 abc	8.80 bcd
	Clark×Hobbit	<i>B. japonicum</i>	81.00 ab	5.80 ab	2.70 ab	4.30 bc	0.49 d-g	0.57 b-e	0.55 abc	7.50 d
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	75.00 abc	5.40 abc	2.84 def	4.60 abc	0.53 cd	0.61 bcd	0.70 ab	12.00 a
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	75.00 abc	5.40 abc	2.78 ab	4.60 abc	0.55 bc	0.74 a	0.74 a	8.50 cd
100	Zalta Zalha	<i>B. japonicum</i>	73.00 abc	5.20 abc	2.76 cd	4.50 abc	0.47 e-h	0.58 b-e	0.51 abc	7.00 de
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	69.00 abc	4.90 abc	2.92 e-h	4.60 abc	0.52 cd	0.59 b-e	0.58 abc	11.00 abc
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	79.00 abc	5.70 abc	3.02 e-h	4.70 ab	0.58 d	0.66 ab	0.63 abc	7.50 d
	Clark×Hobbit	<i>B. japonicum</i>	81.00 ab	5.80 ab	2.68 bcd	4.40 bc	0.49 d-g	0.52 def	0.51 abc	7.00 de
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	79.00 abc	5.70 abc	2.56 bcd	4.50 abc	0.47 e-g	0.47 def	0.55 abc	12.30 a
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	77.00 abc	5.50 abc	2.81 bc	4.60 ab	0.51 e-f	0.66 abc	0.71 ab	12.30 a
150	Zalta Zalha	<i>B. japonicum</i>	67.00 bc	4.80 bc	2.63 cd	4.60 bc	0.45 gh	0.49 def	0.50 abc	9.00 bcd
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	81.00 ab	5.80 ab	2.80 h	4.30 bc	0.49 d-g	0.52 def	0.57 abc	7.00 de
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	65.00 bc	4.60 bc	2.65 gh	4.80 ab	0.51 cde	0.57 b-f	0.63 abc	11.30 ab
	Clark×Hobbit	<i>B. japonicum</i>	71.00 abc	5.10 abc	2.69 fgh	4.00 c	0.46 fgh	0.47 ef	0.47 bc	4.80 e
		<i>P. fluorescens+B. japonicum</i>	77.00 abc	5.50 abc	2.75 cde	4.30 bc	0.43 h	0.42 f	0.43 c	6.80 de
		<i>G. mosseae+B. japonicum</i>	60.00 c	4.30 c	2.87 cd	4.50 abc	0.50 def	0.55 b-f	0.61 abc	8.30 d

* Means in each column and for each treatment followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using DMRT test.
 * در هر ستون سطوح تیماری که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

- 1- Ahmad, M.H. 1995. Compatibility and Co-selection of VAM fungi and *rhizobia* for tropical legumes. *Critical Reviews in Biotechnology* 115: 229-239.
- 2- Albrecht, C., Geurts, R., and Bisseling, T. 1999. Legume nodulation and mycorrhizae formation, two extremes in host specificity meet. *The EMBO Journal* 18(2): 281-288.
- 3- Aliasgharzad, N., Neyshabouri, M.R., and Salimi, G. 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* on drought stress of soybean. *Biologia, Bratislava* 19: 324-328.
- 4- Allen, M.F. 2003. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press. New York 534 pp.
- 5- Allen, M.F., Smith, W.K., Moore, Jr T.S., and Christensen, M. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. *New Phytologist* 88: 683-693.
- 6- Antunes, P.M. 2004. Determination of nutritional and signaling factors involved in the tripartite symbiosis formed by arbuscular mycorrhizal fungi, *Bradyrhizobium* and soybean. PhD Thesis. The University of Guelph.
- 7- Asadi Rahmani, H. 1999. Study of the possibility of predicate and necessary for inoculation soybean as based of determination number of *Bradyrhizobium japonicum* and N mineralization potential in soybean grow under soils. MSc Thesis. The University of Tehran, Iran. (In Persian with English Summary)
- 8- Beck, D.P., Materon, L.A., and Afandi, F. 1993. *Practical Rhizobium-Legume Technology Manual*. Technical Manual No. 19. ICARDA. Syria.
- 9- Diar kianmehr, H., Hashemi nejad, F., and Hajian shahri, M. 2000. Symbiosis of Vesicular Arbuscular Mycorrhiza (VAM) effects on Bromus (*Bromus tectorum* L.) plant growth. *Journal of Base Sciences* 13(2): 13-27.
- 10- Diop. T.A., Krasova-Wade, T., Diallo, A., Diouf, M., and Gueye, M. 2003. *Solanum* cultivar responses to arbuscular mycorrhizal fungi: growth and mineral status. *African Journal of Biotechnology* 2(11): 429-433.
- 11- Dorenbos, D.L., Mullen, R.E., and Shibles, R.M. 1989. Drought stress effects during seed fill on soybean seed germination and vigor. *Crop Science* 29: 476-480.
- 12- FAS (Foreign Agriculture Service) 2005. Oilseeds: world market and trades. Current World Production, Market and trade reports. <http://www.fas.usda.gov>.
- 13- Hadi, H., Daneshian, J., Asgharzadeh, A., Hamidi, A., Jonoubi, P., Ghooshchi, F., and Nasri, M. 2009. Effect of free and symbiotic nitrogen fixing bacterial co-inoculation on seed and seedling of soybean seeds produced under deficit water condition. *Agroecology* 1(1): 53-64. (In Persian with English Summary)
- 14- Hadi, H., Asgharzadeh, A., Daneshian, J., and Hamidi, A. 2010. Effect of soybean co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azotobacter chroococcum* on nodule and plant characteristic the seeds produced under drought stress. *Soil Research Journal* 2A(24): 34-46.
- 15- Hunter, E.A., Glasbey, C.A., and Naylor, R.E.L. 1984. The analysis of data from germination tests. *Journal of Agricultural Science*. Cambridge 102: 207-231.
- 16- Ilbas, A.I., and Sahin, S. 2005. *Glomus fasciculatum* inoculation improves soybean production. *Acta Agriculturae Scandinavica* 55(4): 287-292.
- 17- Khan, A.G. 2006. Mycorrhizoremediation-an enhanced form of phytoremediation. *Journal Zhejiang University Science* B7(7): 503-514.
- 18- Klopper, J.W., Scher, F.M., Labiret, E.M., and Tipping, B. 1986. Emergence Promoting Rhizobacteria: Descriptions and Implications for Agriculture, p.: 155-164. In: Iron, Sidrophores and Plant Disease. Ed., Swinburne, T.R., Plenum, New York.
- 19- Kucey, R.M.N., and Paul, E.A. 1982. Carbon flow, photosynthesis, and N₂ fixation in mycorrhizal and nodulated faba beans (*Vicia faba* L.). *Soil Biology and Biochemistry* 14: 407-412.
- 20- Ramadan, M.A.E.H., and Attia, M. 2006. The use of Arbuscular Mycorrhizal fungi to protect plants and soil using contaminated water. *Geophysical Research Abstracts* 8: 3129-3130.
- 21- Rasi Pour, L., and Aliasgharzad, N. 2007. The interaction effects of P solution bacteria and (*Bradyrhizobium japonicum*) on growth indices, nodulation and some mineral uptake in soybean. *Journal of Sciences and Techniques of Agriculture and Natural Resources* 4: 53-63.
- 22- Rosas, S., Rovera, M., Andres, J., and Correa, N. 2002. Effect of phosphorous solubilizing bacteria on the rhizobialegume symbiosis. *Proceedings of the 15th International Meeting on Microbial phosphate Solubilization*. Salamanca University, 16-19 July, Salamanca, Spain.
- 23- Saha, R., Mandal, A.K., and Basu, R.N. 1990. Physiology of seed invigoration treatments in soybean (*Glycine max* L.). *Seed Science and Technology* 18: 269-276.
- 24- Sharma, A.K., and Johri, B.N. 2002. *Arbuscular Mycorrhizae, Interaction in Plants, Rhizosphere and Soils*. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, 308 pp.
- 25- Smiciklas, K.D., Mullen, R.E., Carlson, R.E., and Knapp, A.D. 1989. Drought-induced stress effects on soybean seed calcium and quality. *Crop Science* 29: 1519-1522.
- 26- Stankova, P., and Stankov, I. 2001. Effect of the soil drought on the sowing qualities of seeds in common wheat (*T.*

- aestivum* L). Rasteniiev dni–Nauki 38(7/10): 306-308.
- 27- Taiz, L., and Zigger, E. 1998. Plant Physiology. 2nd edition. The Iowa State University Press. Amsterdam 560 pp.
- 28- Thiagarajan, T.R., and Ahmad, M.H. 1993. Influence of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on the competitive ability of *Bradyrhizobium* spp. for nodulation of cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp in non-sterilized soil. Biology and Fertility of Soils 15(4): 294-296.
- 29- Thomas, A.L., and Costa, J.A. 1996. Effect of water deficit on soybean seed size and seedling vigor. Pesquisa Agropecuria Gaucha 2(1): 57-61.
- 30- Wasule, D.L., Wadyalkar, S.R., and Buldo, A.N. 2002. Effect of phosphate solubilizing bacteria on role of *Rhizobium* on nodulation by soybean. Proceedings of the 15th Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Salamanca University, 16-19 July, Salamanca, Spain.
- 31- Zaidi, S.F.A. 2003. Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and fluorescent *Pseudomonas* to control *Rhizoctonia solani* in soybean [*Glycine max* (L.) Merr]. Annals of Agricultural Research 24: 151-153.