بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده مهندسی کشاورزی

گروه زراعت

پایان نامه کارشناسی ارشد

" بررسی اثر قارچ میکوریزا و باکتری‌های ریزوبیوم و تیوباسیلوس بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی "

ارمغان خاکبازپور

استاد راهنما:

دکتر احمد غلامی

اساتید مشاور:

دکتر علی ملک ثابت

دکتر مهدی برادران فیروزآبادی

بهمن ماه ۱۳۹۴

پیوست شماره ۲

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده مهندسی کشاورزی

گروه : زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه کارشناسی ارشد خانم ارمغان خاکبازپور به شماره دانشجویی: **۹۲۰۵۶۵۴**

تحت عنوان: بررسی اثر قارچ میکوریزا، باکتری‌های ریزوبیوم و تیوباسیلوس بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی

در تاریخ ۲۶/۱۱/۹۴ توسط کمیته تخصصي زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد مورد ارزیابي و با درجه عالی مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
دکتر احمد غلامی		دکتر مهدی برادران فیروزآبادی	
		دکتر علی ملک ثابت	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلي	امضاء
دکتر حمیدرضا اصغری		دکتر حمید عباس دخت	
دکتر شاهرخ قرنجیک			

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خود گذشتگی،

به پاس عاطفه سر شار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است،

به پاس قلب‌های بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می‌گراید

و به پاس محبت‌های بی دریغ‌شان که هرگز فروکش نمی‌کند.

تقدیر و تشکر

اینک که در پرتو مهربانی و رحمت الهی انجام این تحقیق به پایان رسیده، بر خود واجب می‌دانم که مراتب سپاس و قدر دانی خود را خدمت تمام عزیزانی که در اجرای این پایان نامه همکاری نموده و راهگشا بودند، عرض کنم.

با بوسه بر دستان **پدر و مادر** عزیز، دلسوز و مهربانم که آرامش روحی و آسایش فکری فراهم نمودند تا با حمایت‌های همه جانبه در محیطی مطلوب مراتب تحصیلی و نیز پایان نامه‌ی درسی را به نحو احسن به اتمام برسانم؛ تشکر و قدرانی می‌نمایم.

از استاد گرانقدرم جناب آقای **دکتر احمد غلامی** که با کمال متانت زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند کمال سپاس و تشکر را دارم.

بسی شایسته است از اساتید فرهیخته و فرزانه جناب آقای **دکتر علی ملک ثابت** و جناب آقای **دکتر مهدی برادران فیروزآبادی** که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با مشاوره های سازنده بارور ساختند تقدیر و تشکر نمایم.

هم‌چنین از آقایان **دکتر حمیدرضا اصغری** و **دکتر شاهرخ قرنجیک** که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را پذیرفتند کمال تشکر را دارم.

هم چنین از نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای **دکتر حمید عباس دخت** کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

هم‌چنین از برادر و خواهر عزیزم **کامل خاکبازپور** و **ارغوان خاکبازپور** صمیمانه سپاسگزارم و بهترین‌ها را برایشان آرزو می‌کنم.

و در نهایت مراتب سپاس خود را به حضور استاد محترم جناب آقای **دکتر امین آزادی** و دوستان گرامی خانم‌ها **مرز عبیدی، سپیده آقا صادقی** و **مائده باریکانی** و سایر دوستان که به نحوی از الطاف بی‌دریغ‌شان بهره مند گشتم تقدیم و برایشان آرزوی سعادت و شادکامی می‌کنم.

ارمغان خاکبازپور

بهمن ۱۳۹۴

تعهد نامه

اینجانب **ارمغان خاکبازپور** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **کشاورزی اکولوژیک** دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **بررسی اثر قارچ میکوریزا و باکتری‌های ریزوبیوم و تیوباسیلوس بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی** تحت راهنمائی دکتر احمد غلامی متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.**

مقالات مستخرج از پایان نامه

بررسی اهمیت سیستم کشت مخلوط در بهره‌وری منابع در مناطق خشک و نیمه خشک. اولین همایش ملی بحران کم آبی و راه‌های برون رفت. کبودرآهنگ. ۲۶ و ۲۷ شهریور ۱۳۹۴.

بررسی تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس و قارچ میکوریزا بر اجزای عملکرد در لوبیا چشم بلبلی. دومین همایش ملی صیانت از منابع طبیعی و محیط زیست. اردبیل. ۱۲ و ۱۳ اسفند ۱۳۹۴.

مطالعه تلقیقی اثر تلقیح میکوریزا و کاربرد باکتری ریزوبیوم وتیوباسیلوس بر رشد لوبیا چشم بلبلی. دومین همایش ملی صیانت از منابع طبیعی و محیط زیست. اردبیل. ۱۲ و ۱۳ اسفند ۱۳۹۴.

چکیده:

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر همزیستی قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری در سال ۱۳۹۳ به صورت آزمایش فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل قارچ میکوریزا در سه سطح (m_1=*G.mosseae*،m_2 =*G.intraradices*) و عدم تلقیح= m_0)، باکتری ریزوبیوم در دو سطح (مصرف باکتری ریزوبیوم=r_1 ، عدم مصرف باکتری=r_0) و باکتری تیوباسیلوس در دو سطح (مصرف باکتری تیوباسیلوس=b_1 ، عدم مصرف باکتری=b_0) بودند. نتایج این بررسی نشان داد که با تلقیح قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن خشک غلاف، شاخص سطح برگ، وزن صد دانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت، درصد کلونیزاسیون ریشه، شاخص کلروفیل، کلروفیل برگ، کاروتنوئید، درصد پروتئین دانه و درصد نیتروژن دانه و درمقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. درصد فسفر دانه و محتوی آب نسبی فقط تحت تاثیر تلقیح میکوریزا قرار گرفت. اثر متقابل میکوریزا و ریزوبیوم نیز بر تعداد دانه در غلاف، وزن خشک غلاف، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، کلروفیل a و کاروتنوئید معنی‌دار شد. وزن خشک غلاف به طور معنی‌داری تحت تاثیر تلقیح میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس قرار گرفت. هم‌چنین برهم‌کنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه و وزن خشک غلاف شدند.

کلمات کلیدی: عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، کاروتنوئید، وزن خشک غلاف، وزن صد دانه

فهرست مطالب **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱- مقدمه ۲

فصل دوم: بررسی منابع ۱۱

۱-۲- لوبیا چشم بلبلی ۱۲

۲-۲- مبداء تاریخچه و اهلی شدن ۱۲

۲-۳- تولید لوبیا چشم بلبلی در ایران و جهان ۱۳

۲-۴- گیاه شناسی لوبیا چشم بلبلی ۱۳

۲-۴-۱- مراحل رشدی لوبیا چشم بلبلی ۱۵

۲-۵- اکولوژی لوبیا چشم بلبلی ۱۶

۲-۶- ترکیبات شیمیایی دانه‌ی لوبیا چشم بلبلی ۱۷

۲-۷- اهمیت اقتصادی و مورد استفاده ۱۷

۲-۸- اثرات منفی کودهای شیمیایی ۱۸

۲-۹- تاریخچه‌ی کودهای زیستی ۲۰

۲-۱۰- کودهای زیستی ۲۱

۲-۱۱- تثبیت زیستی نیتروژن ۲۳

۲-۱۲- ریزوبیوم ۲۵

۲-۱۳- فاکتورهای موثر بر گره زایی و همزیستی ریزوبیوم ۲۶

۲-۱۴- اثر ریزوبیوم بر گیاهان ۲۷

۲-۱۵- باکتری تیوباسیلوس ۲۸

۲-۱۵-۱- اکسیداسیون گوگرد ۳۰

۲-۱۶- قارچ میکوریزا ۳۱

۲-۱۶-۱- تاریخچه میکوریزا ۳۲

۲-۱۶-۲- نقش میکوریزا در تغذیه گیاهان ۳۲

۲-۱۶-۳- مزایای تلقیح قارچ میکوریزا ۳۳
۲-۱۶-۴- طبقه بندی قارچهای میکوریزا و چگونگی برقراری همزیستی ۳۴
۲-۱۶-۴-۱- قارچهای اکتومیکوریزا ۳۴
۲-۱۶-۴-۲- قارچهای اندومیکوریزا ۳۴
۲-۱۶-۴-۳-قارچهای اکتندومیکوریزا ۳۵
۲-۱۶-۵- مراحل تشکیل سیستم میکوریزایی ۳۵
۲-۱۶-۶- گسترش و کلونیزاسیون میکوریزا ۳۶
۲-۱۶-۷- مراحل گسترش کلونیزاسیون قارچهای VAM ۳۶
۲-۱۶-۷-۱- پیش کلونیزاسیون ۳۶
۲-۱۶-۷-۲- کلونیزاسیون ثانویه ۳۷
۲-۱۶-۷-۳- تشکیل آرباسکول- وزیکول ۳۷
فصل سوم: مواد و روش ها ۳۹
۳-۱- زمان و موقعیت محل اجرای آزمایش ۴۰
۳-۲- موقعیت جغرافیایی در منطقه شهر ری ۴۰
۳-۳- شرایط آب و هوایی منطقه ۴۰
۳-۴- مشخصات خاک محل آزمایش ۴۱
۳-۵- مشخصات طرح آزمایشی و تیمارهای آزمایش ۴۱
۳-۶- عملیات اجرایی ۴۲
۳-۶-۱- آماده سازی زمین ۴۲
۳-۶-۲- کاشت ۴۲
۳-۶-۲-۱- مصرف باکتری ریزوبیوم ۴۲
۳-۶-۲-۲- مصرف باکتری تیوباسیلوس ۴۳
۳-۶-۲-۳- مصرف قارچ میکوریزا ۴۳
۳-۶-۲-۴- آماده سازی بذر ۴۳
۳-۶-۳- داشت ۴۳

۳-۶-۴- برداشت ۴۴
۳-۶-۴-۱- نمونه برداری در طی فصل رشد ۴۴
۳-۶-۴-۲- نمونه برداری عملکرد ۴۴
۳-۷- ارزیابی صفات ۴۴
۳-۷-۱- تعیین میزان کلونیزاسیون ریشه ۴۵
۳-۷-۲- تعیین نیتروژن دانه ۴۵
۳-۷-۳- تعیین فسفر دانه ۴۶
۳-۷-۴- تعیین محتوی آب نسبی برگ ۴۶
۳-۷-۵- تعیین کلروفیل a، b و کاروتنوئید ۴۶
۳-۸- تجزیه آماری داده ها ۴۷
فصل چهارم: نتایج و بحث ۴۹
۴-۱- ارتفاع ساقه اصلی ۵۰
۴-۲- تعداد غلاف در بوته ۵۲
۴-۳- تعداد دانه در غلاف ۵۶
۴-۴- وزن خشک غلاف ۵۸
۴-۵- شاخص سطح برگ ۶۱
۴-۶- وزن صد دانه ۶۴
۴-۷- محتوی آب نسبی برگ ۶۷
۴-۸- عملکرد دانه در هکتار ۶۸
۴-۹- عملکرد بیولوژیک در هکتار ۷۳
۴-۱۰- شاخص برداشت ۷۶
۴-۱۱- درصد کلونیزاسیون ریشه ۷۷
۴-۱۲- شاخص کلروفیل ۸۱
۴-۱۳- مقدار کلروفیل ۸۵

۴-۱۳-۱- کلروفیل a ۸۵
۴-۱۳-۲- کلروفیل b ۸۶
۴-۱۳-۳- کاروتنوئید ۸۹
۴-۱۴-۴- کلروفیل کل ۹۱
۴-۱۵- درصد پروتئین دانه ۹۴
۴-۱۶- درصد نیتروژن دانه ۹۷
۴-۱۷- درصد فسفر دانه ۱۰۱
نتایج ۱۰۴
پیشنهادها ۱۰۵
پیوست ۱۰۷
منابع ۱۱۳

فهرست اشکال

اشکال ..... صفحه

شکل ۴-۱ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر ارتفاع ساقه اصلی ۵۱

شکل ۴-۲ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر ارتفاع ساقه اصلی ۵۲

شکل ۴-۳ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر ارتفاع ساقه اصلی ۵۲

شکل ۴-۴ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر تعداد غلاف در بوته ۵۴

شکل ۴-۵ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر تعداد غلاف در بوته ۵۵

شکل ۴-۶ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر تعداد غلاف در بوته ۵۵

شکل ۴-۷ تاثیر بر هم‌کنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر تعداد دانه در غلاف ۵۷

شکل ۴-۸ تاثیر بر هم‌کنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر وزن خشک غلاف ۶۰

شکل ۴-۹ تاثیر بر هم‌کنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر وزن خشک غلاف ۶۰

شکل ۴-۱۰ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر شاخص سطح برگ ۶۲

شکل ۴-۱۱ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر شاخص سطح برگ ۶۳

شکل ۴-۱۲ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر شاخص سطح برگ ۶۳

شکل ۴-۱۳ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر وزن صد دانه ۶۶

شکل ۴-۱۴ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر وزن صد دانه..... ۶۶

شکل ۴-۱۵ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر وزن صد دانه ۶۷

شکل ۴-۱۶ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر محتوی آب نسبی برگ ۶۸

شکل ۴-۱۷ تاثیر بر هم‌کنش . قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر عملکرد دانه در هکتار ۷۲

شکل ۴-۱۸ تاثیر بر هم‌کنش . قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر عملکرد دانه در هکتار ۷۶

شکل ۴-۱۹ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر شاخص برداشت ۷۷

شکل ۴-۲۰ . تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر درصد کلونیزاسیون ریشه ۸۰

شکل ۴-۲۱ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه ۸۰

شکل ۴-۲۲ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر درصد کلونیزاسیون ریشه ۸۱
شکل ۴-۲۳ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر شاخص کلروفیل ۸۳
شکل ۴-۲۴ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر شاخص کلروفیل ۸۴
شکل ۴-۲۵ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر شاخص کلروفیل ۸۴
شکل ۴-۲۶ تاثیر بر هم‌کنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل a ۸۶
شکل ۴-۲۷ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل b ۸۸
شکل ۴-۲۸ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر کلروفیل b..... ۸۹
شکل ۴-۲۹ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر کلروفیل b ۸۹
شکل ۴-۳۰ تاثیر بر هم‌کنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر کاروتنوئید ۹۱
شکل ۴-۳۱ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل کل ۹۲
شکل ۴-۳۲ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر کلروفیل کل ۹۳
شکل ۴-۳۳ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر کلروفیل کل ۹۳
شکل ۴-۳۴ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر درصد پروتئین دانه ۹۶
شکل ۴-۳۵ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد پروتئین دانه ۹۶
شکل ۴-۳۶ تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر درصد پروتئین دانه ۹۷
شکل ۴-۳۷ تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر درصد نیتروژن دانه ۱۰۰
شکل ۴-۳۸ . تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد نیتروژن دانه ۱۰۰
شکل ۴-۳۹ . تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر درصد نیتروژن دانه ۱۰۱
شکل ۴-۴۰ تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد فسفر دانه ۱۰۴
شکل پیوست ۱- نقشه کاشت آزمایش ۱۱۲

فهرست جداول

جداول ..... صفحه

جدول ۲-۱ اثرات زیان آور مصرف بیش از حد کود نیتروژن ۱۹

جدول ۳-۱ مشخصات خاک مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری ۴۱

جدول ۴-۱ مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر وزن خشک غلاف ۶۱

جدول ۴-۲ مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر وزن خشک غلاف ۷۳

جدول پیوست ۴-۱ جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی صفات مورد ارزیابی در گیاه لوبیا چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس ۱۰۸

جدول پیوست ۴-۲ جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی صفات مورد ارزیابی در گیاه لوبیا چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس ۱۰۹

جدول پیوست ۴-۳ جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی صفات مورد ارزیابی در گیاه لوبیا چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس ۱۱۰

جدول پیوست ۴-۴ جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی صفات مورد ارزیابی در گیاه لوبیا چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس ۱۱۱

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

جمعیت جهان با نرخی معادل ۸۰ میلیون نفر در سال در حال افزایش است. بیش‌ترین افزایش جمعیت در آینده در مناطقی به وقوع خواهد پیوست که کم‌تر توسعه یافته‌اند. افزایش قابل انتظار در جمعیت باعث افزایش فشار بر روی زمین‌های کشاورزی می‌شود که این امر به خصوص در آسیا که بیش‌ترین تراکم جمعیت را به ازای هر هکتار زمین قابل کشت و زرع در دنیا به خود اختصاص داده است، مشهود است. هدف اصلی، حفظ تولید غذا برای تامین نیازهای رشد جمعیت و عدم تخلیه و تخریب منابع موجود می‌باشد. جمعیت جهان، هم‌چنان در حال افزایش است و تولیدات کشاورزی جدید بر پایه‌ی استفاده از سوخت‌های فسیلی و دیگر منابع محدود و غیرقابل تکرار می‌باشد. ترس روز افزونی از این امر وجود دارد که بهره‌برداری پیوسته و بدون وقفه از نهاده‌های خارجی در دراز مدت، ظرفیت تولید در کشاورزی را کاهش دهد و افزایش تولید موادغذایی که در چند دهه‌ی گذشته مشاهده شده است، ادامه نیابد (جامی الاحمدی، ۱۳۸۵). این موضوع در دو دهه اخیر باعث شده است تا مصرف مواد پروتئینی به‌ویژه پروتئین‌های گیاهی که منابع ارزشمندتری در تغذیه هستند اجتناب پذیر شود (خوفی و انویه تکیه، ۱۳۸۸). با توجه به رشد جمعیت و افزایش تقاضا برای غذا و به منظور تامین امنیت غذایی، حبوبات مهم‌ترین منبع غذایی پروتئینی در تغذیه انسان به شمار می‌روند. حبوبات در رژیم غذایی گیاه خواری دارای ارزش غذایی کاملی می‌باشند. تاکید رژیم غذایی گیاه خواری مبتنی بر حبوبات به عنوان منبع اصلی پروتئین باعث شده است که تقاضا برای این دسته از مواد غذایی گیاهی بیش‌تر شود. اما متاسفانه بر خلاف غلات میزان تولید حبوبات در حال حاضر جوابگوی نیاز در حال رشد برای آن‌ها نمی‌باشد. تولید حبوبات در سراسر جهان پایین است و کشت آن اکثرا در کشورهای در حال توسعه متمرکز است (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸).

مهم‌ترین چالش موجود در کشاورزی افزایش تولید غذا همگام با نیازهای جمعیت در حال افزایش و در قالب یک نظام کشاورزی پایدار است. دست‌یابی به این هدف غیر ممکن نیست زیرا در

حال حاضر در بسیاری از کشورهای در حال توسعه، کشاورزی به صورت غیر فشرده انجام می‌گیرد و بنابراین پتانسیل برای افزایش تولید در مناطق وسیع وجود دارد. برخی از زمین‌های بلا استفاده هنوز هم می‌توانند تحت عملیات زراعی قرار گیرند اما افزایش تولید غذا عمدتا باید بر مبنای افزایش عملکرد در زمین‌های موجود استوار شود (جامی الاحمدی، ۱۳۸۵). جمعیت جهان در کشورهای در حال توسعه به طور چشمگیری رو به افزایش است و این موضوع مشکل تامین مواد غذایی را برای مردم این کشورها حادتر می‌کند. برای جلوگیری از کمبود موادغذایی باید تولید محصول را افزایش داد. محدودیت اراضی مستعد و قابل کشت همراه با افزایش تقاضا برای مواد غذایی، محققین بخش کشاورزی را با چالش بزرگی روبه‌رو نموده است. به همین جهت، در شرایطی که عملا توسعه اراضی کشور مقدور نیست، بیش‌ترین نگاه‌ها به افزایش عملکرد در واحد سطح معطوف شده است. از مولفه-های اساسی افزایش عملکرد محصولات، مصرف بیش‌تر نهاده‌ها به ویژه کودهای شیمیایی است (قربانی، ۱۳۸۶).

پس از غلات، دومین منبع مهم غذایی بشر، حبوبات است. این گیاهان متعلق به خانواده‌ی بقولات (*Fabaceae*) و زیر خانواده پروانه آسایان (*Papilionoideae*) می‌باشند. در بین آن‌ها گیاهان درختی، بوته ای و علفی که در مناطق گرمسیر و معتدل گسترش یافته اند، به چشم می خورد. طبق آماره منتشره‌ی FAO سطح زیر کشت کل گیاهان بقولات که به منظور تولید دانه کاشته می شوند حدود ۱۸ میلیون هکتار (۱۳ درصد سطح زیر کشت کل غلات) و محصول آنها بین ۴۳ تا ۴۴ میلیون تن است (باقری و همکاران، ۱۳۷۶؛ کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). میزان تولید پایین حبوبات غالبا مربوط به پایین بودن میزان تولید آن‌ها در مقایسه با غلات در نتیجه عوامل ژنتیکی می‌باشد. مطالعات نشان داده است که در یک سطح یکسان انرژی خورشیدی جذب شده در هکتار، حبوبات معمولا در مقایسه با غلات عملکرد بیولوژیکی کم‌تری دارند.

در حبوبات به علت وجود مسیرهای بیوسنتزی ذخیره انرژی در دانه، مقدار کالری بیشتری مصرف می‌شود. به عبارت دیگر به علت فرآیندهایی که در ذخیره پروتئین و چربی در دانه وجود دارد میزان بیوماس قابل برداشت در حبوبات کاهش می‌یابد (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸). حبوبات سرشار از پروتئین، روغن، کربوهیدرات، فیبر، مواد معدنی و ویتامین هستند. رژیم غذایی که فیبر داشته باشد اثرات سودمندی در کاهش خطر ریسک بیماری‌های قلبی، دیابت و چاقی و انواع سرطان-ها دارند. حبوبات در مقایسه با غلات در دانه‌هایشان پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های غنی از انرژی دارند. در نتیجه میزان انرژی در دانه‌های آن‌ها بیش‌تر از غلات می‌باشد (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸). حبوبات دانه های خوراکی لگوم‌ها هستند و اصطلاحا به دانه‌های خشک رسیده و یا غلاف‌های سبز و نارسی گفته می‌شوند که مورد استفاده انسان قرار می‌گیرند. لگوم از کلمه یونانی *Legumen* گرفته شده که به معنی میوه‌های غلاف‌داری است که با دو شکاف طولی باز می‌شوند (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸). گیاهان تیره بقولات ظاهری کاملا متفاوت با تیره‌ی گیاهان گندمیان داشته و اختلاف ظاهری نسبتا قابل ملاحظه‌ای بین جنس و حتی گونه‌های گیاهان این تیره را می‌توان مشاهده نمود. برگ‌های گیاهان لگومینوز سه برگچه‌ای بوده و معمولا به طور متناوب در روی ساقه قرار دارند. در قاعده محور برگ های آن‌ها نیز گوشوارک‌های بلند و مشخصی دیده می‌شود. ساقه‌های این تیره در گونه‌های مختلف از نظر طول، اندازه، انشعابات شاخه و چوبی و غیر چوبی بودن کاملا با هم اختلاف دارند (کریمی، ۱۳۷۵). بذور رسیده و خشک بقولات دارای ارزش غذایی زیاد و قابلیت نگه‌داری خوبی هستند و در رژیم غذایی بیش‌تر مردم جهان نقش مهمی را بازی می‌کنند. این بذور بعد از غلات دومین منبع مهم غذایی انسان و دام به شمار می‌روند. حبوبات جز اصلی رژیم غذایی بسیاری از مردم فقیر جهان را تشکیل می‌دهد چرا که مقادیر قابل توجه پروتئین مرغوب موجود در دانه این محصولات در ترکیب با غلات می‌تواند یک ترکیب زیستی ارزش‌مند غذایی فراهم نماید (باقری و پارسا، ۱۳۸۷). حبوبات گوشت مردم فقیر نامیده شده است. دانه حبوبات با داشتن حدود ۳۲- ۱۸ درصد پروتئین نقش مهمی در تامین مواد پروتئینی مورد نیاز انسان دارد. حبوبات علاوه بر

تامین پروتئین به علت یک ویژگی که تقریبا خاص گیاهان خانواده بقولات است یعنی وجود باکتری-های تثبیت کننده نیتروژن اتمسفری در ریشه‌ی آن‌ها، در حاصلخیزی خاک موثرند و هر ساله مقادیر زیادی نیتروژن بعد از برداشت این محصولات به خاک افزوده می‌شود. سایر قسمت‌های بعضی از گیاهان لگوم مثل برگ‌ها، ساقه‌ها، گل‌ها، غلاف‌های نارس، غده‌ها به اضافه‌ی بذور جوانه زده به عنوان غذای انسان، دام و کود سبز برای تقویت و بهبود وضع فیزیکی زمین مورد استفاده قرار می‌گیرند. حبوبات حتی از نظر نگه‌داری و انبار کردن نسبت به سایر محصولات زراعی مناسب تر بوده و آسیب پذیری کم‌تری در برابر حشرات و آفات انباری دارند و بدین جهت آن‌ها را برای مدت‌های طولانی می-توان ذخیره نمود که خود در زمان جنگ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مقدار پروتئین موجود در بذور حبوبات ۲ تا ۳ برابر بیش‌تر از پروتئین موجود دردانه‌های غلات (دانه گندم۲۱-۷٪، دانه ذرت ۱۵-۷٪، دانه برنج ۸-۷٪) و ۱۰ تا ۲۰ برابر بیش‌تر از پروتئین موجود در گیاهان غده‌ای (نشاسته‌ای) می‌باشد (مجنون حسینی، ۱۳۸۳؛ داتا و دایال، ۱۹۹۱). لوبیا چشم بلبلی منبع خوبی از پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی محلول و نامحلول و فیبر می‌باشد (زیایوای هاکیو و همکاران، ۲۰۱۳) به همین دلیل لوبیا مهم‌ترین عضو خانواده‌ی حبوبات به شمار می‌آید. لوبیا چشم بلبلی محصول زراعی مهمی است که به طور وسیعی در مناطق گرم آفریقا، آسیا و آمریکا رشد می کند و به عنوان یک منبع مهم غذایی در نظر گرفته می‌شود و شامل ارقامی است که به شرایط مختلف آب و هوایی سازگار است (اهلرس و هال، ۱۹۹۷؛ سیلوریا و همکاران، ۲۰۰۱). لوبیا چشم بلبلی لگوم یک ساله‌ی تابستانه است (پاک مهر و همکاران، ۱۳۹۰). لوبیا چشم بلبلی بنا به عقیده عده‌ای از علما از آفریقای مرکزی منشا یافته و از آنجایی‌که انواع وحشی آن در نواحی گرمسیر آفریقا یافت شده‌اند می-توان فرض کرد زیر گونه *V.sinensis* نیز از همان‌جا منشا گرفته و از طریق مصر به آسیا و مدیترانه آورده شده است. لوبیا چشم بلبلی در قرن ۱۷ توسط اسپانیایی‌ها به آمریکا برده شده و در حال حاضر گونه‌های *V.unguiculata* که نماینده تعداد زیادی از واریته‌ها و شکل‌های مختلف است به طور وسیعی در تمام کشورهای گرمسیر و نیمه گرمسیر کشت می‌شوند (مجنون حسینی، ۱۳۸۳).

افزایش جمعیت دنیا و لزوم تولید بیش‌تر محصولات کشاورزی در سال اخیر، موجب فشار بر زمین‌های کشاورزی از طریق کاربرد مقادیر بیش‌تر کودهای شیمیایی شده است. موادشیمیایی، کودها و سموم شیمیایی اهمیت زیادی در ازدیاد محصول و تقویت حاصلخیزی خاک‌ها دارند، اما هزینه زیاد و نیز تاثیر نامطلوب آن‌ها بر محیط زیست و کیفیت محصولات کشاورزی منجر به توجه بیش‌تر به استفاده از روش‌هایی شده است که در آن‌ها نیاز به مصرف نهاده‌های شیمیایی کم بوده و یا نباشد (السن، ۲۰۰۰). مقدار کل کودهای شیمیایی مصرفی (بر اساس عنصر) در جهان در سال ۱۹۶۱ حدودا معادل ۱۰ میلیون تن بوده است. امروزه مصرف نیتروژن (N) ۸ برابر، فسفر (P_2O_5) ۳ برابر و پتاسیم (K_2O) ۲ برابر شده است (مرشدی، ۱۳۸۲). یکی از راه‌های رفع این مشکل اعمال راه‌کارهایی مبتنی بر استفاده از اصول دراز مدت کشاورزی بوم شناختی در بوم نظام های زراعی می‌باشد. کشاورزی بوم شناختی یک نظام تلفیقی مبتنی براصول بوم شناختی است. دراین نظام به جای استفاده از نهاده‌های خارجی نظیر انواع کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها از تناوب زراعی با بقولات، بقایای گیاهی، انواع کودهای دامی، آلی و زیستی استفاده می شود تا ضمن ذخیره مواد غذایی درخاک، علف‌های هرز و آفات کنترل شده و تنوع زیستی در مزارع افزایش می یابد (السن، ۲۰۰۰؛ هاگاگ، ۲۰۰۲). در واقع این دیدگاه یکی از موثرترین روش‌های موفق در رشد کشاورزی و تامین موادغذایی، حفظ، نگه‌داری و تقویت خاک است. بنابراین از عوامل با اهمیت برای تولید غذا در سال‌های آینده استفاده موثر و بهینه از کودهای آلی، منابع زیستی، آب و انرژی می‌باشد که در این باره دو عامل حاصلخیزی خاک و ایمنی محیطی اهمیت خاصی خواهند داشت (اگینی و همکاران، ۱۹۹۹).

یکی از شیوه‌های دست‌یابی به کشاورزی پایدار، استفاده از میکروارگانیسم‌هایی است که نقش مهمی در تامین نیاز غذایی گیاهان دارند که از آن جمله می‌توان به میکوریزا اشاره نمود (علیزاده و آریانا ، ۱۳۸۸). میکوریزا از مهم‌ترین قارچ های موجود در خاک هستند. بر اساس برخی از برآورد ها میکوریزا ۷۰ درصد کل بیوماس قارچ های موجود در خاک را شامل می‌شوند (قربانیان و همکاران، ۲۰۱۲) و هم‌چنین قارچ‌های میکوریزا با ۸۰٪ گیاهان شامل گیاهان شورپسند، آب دوست و خشکی

پسند همزیستی می‌کنند (سلواکومار و تامیژینیان، ۲۰۱۱). شاه حسینی و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند که قارچ‌های میکوریزی منجر به افزایش کمی و کیفی گیاهان زراعی می‌گردند و هم‌چنین سطح جذبی ریشه‌ها را افزایش می‌دهند و در نتیجه منجر به بهبود جذب موادغذایی به‌خصوص تحت شرایط کمبود فسفر شده و ظرفیت فتوسنتزی گیاه را افزایش می‌دهند. این قارچ‌ها همچنین مقاومت به شوری، خشکی و آفات و بیماری ها را افزایش داده و ساختار خاک را بهبود می بخشند. تلقیح میکروبی از جمله قارچ میکوریزای آرباسکولار موجب انحلال فسفر و افزایش جذب فسفر در خاک می‌شود که به نوبه‌ی خود عملکرد را افزایش می‌دهد (کانبولات و همکاران، ۲۰۰۶؛ آسری و همکاران، ۲۰۰۸) و هم‌چنین قادرند که جذب عناصری مانند نیتروژن، مس و روی را افزایش دهند (کلارک و زتو، ۲۰۰۰). خاک یکی از اجزی مهم و منابع پایه است که به عنوان بستر اصلی کشت گیاه و نیز محیطی منحصر به فرد برای انواع حیات محسوب می‌شود (ملکوتی و همکاران، ۲۰۰۵).

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه است. گرچه میزان فسفر مورد نیاز گیاه درمقایسه با سایر عناصر اصلی کم است، با این‌حال جزو عناصر اصلی محسوب می‌شود. فسفر در گیاه نقش اساسی و مستقیمی در انتقال انرژی ایفا می‌کند (سالاردینی، ۲۰۰۵). مشکل کمبود فسفر قابل جذب خاک در مناطق خشک و نیمه خشک جنبه عمومی دارد. تغییر شکل شیمیایی سریع فسفر کودی نیز در این خاک‌ها پدیده شناخته شده‌ای است که پژوهش‌های بسیار متعددی آن را تأیید کرده است. در بهترین شرایط، بیش ازحدود ۲۰ درصد کود فسفره مورد استفاده گیاه قرار نمی‌گیرد (مارتین و هاکینگ، ۲۰۰۴). فسفر منحصرا در قالب آنیون فسفات محلول است. فسفر به صورت $H_2PO_4^{2-}$ و نیز HPO_4^{2-} قابل جذب است. کمبود فسفر در خاک یکی از پیچیده‌ترین مسایل در حاصلخیزی خاک است. فسفر در خاک‌های قلیایی توسط کلسیم و منیزیوم و در خاک‌های اسیدی توسط آهن و آلومینیوم تثبیت و غیر قابل جذب می‌گردد. حداکثر حلالیت فسفر در pH، ۶ تا ۶/۵ است. حتی در این pH نیز بخشی از فسفری که به خاک داده می‌شود به سرعت تثبیت و از دسترس گیاه خارج می‌شود. قسمتی از فسفر تثبیت شده به تدریج آزاد و در اختیار گیاه قرار می‌گیرد (خواجه

پور، ۱۳۸۳). تثبیت سریع و عدم حرکت فسفر در خاک باعث شده است که معمولا مقدار کود مصرفی۱/۵ تا ۲ برابر مقدار مورد نیاز گیاه باشد. مقداری از فسفر مورد نیاز نیز از طریق تجزیه مواد آلی و هوموس تامین می‌گردد (امام، ۱۳۸۳).

یکی دیگر از راهکارهای مهم کاهش مصرف کودهای شیمیایی، استفاده از باکتری تیوباسیلوس می‌باشد. طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها قادر به اکسایش گوگرد در محیط هستند که از بین آن‌ها فقط باکتری های هتروتروف، به ویژه جنس تیوباسیلوس نقش مهمی در اکسایش گوگرد خاک‌های زراعی ایفا می‌کنند (تات، ۱۹۹۵). کشور ایران جز مناطق خشک و نیمه خشک دنیا محسوب می‌شود. تولید محصول در سطح بازدهی مطلوب در خاک‌های آهکی و خاک‌های با pH بالا، همواره با مشکلاتی مواجه بوده است. بخش مهمی از این مشکلات از آن‌جا ناشی می‌شود که در این خاک‌ها به علت وجود pH بالا و غلظت زیاد یون کلسیم، عناصر غذایی که قابلیت جذب آن‌ها وابسته به pH است (آهن، روی، مس و...) به صورت ترکیب‌های نامحلول و غیرقابل استفاده برای گیاهان در می‌آیند. از طرفی افزودن این عناصر به خاک از طریق کودهای شیمیایی مشکلات و آلودگی‌های زیست محیطی را به دنبال خواهد داشت (ثامنی و کساراییان، ۲۰۰۴). با توجه به شرایط اقلیمی و ویژگی-های خاک‌های ایران، توجه به مصرف گوگرد در اراضی کشاورزی بسیار ضروری می‌باشد. عدم مصرف کودهای حاوی گوگرد (مانند سوپر فسفات ساده) در سال‌های قبل، کشت مداوم و متراکم اراضی زراعی، وجود اراضی سدیمی و شور سدیمی و فراوانی و ارزانی گوگرد از مهم‌ترین دلایل توجه جدی به مصرف گوگرد در خاک‌های ایران می‌باشد. کاهش گوگرد ورودی از اتمسفر منجر به منفی شدن تعادل در خاک‌های کشاورزی می‌شود از آن‌جا که تولیدات گیاهان زراعی افزایش پیدا می‌کنند، بنابراین وابستگی به خاک برای عرضه گوگرد که آن‌ها نیازمند برای سنتز پروتئین و تعدادی از ویتامین‌های ضروری و کوفاکتور هستند نیز افزایش پیدا می‌کند (کرتز و میرلئو، ۲۰۰۴). نیاز به گوگرد به طور عمده بین گونه‌های زراعی و مرحله رشد و نمو گیاهان متفاوت است. آفتابگردان موقعی که با گندم، سویا مقایسه می‌شود نیاز بیش‌تری به گوگرد دارد و نیاز بسیار کم‌تر برای لوبیا سبز، برنج

و ذرت در مراحل اولیه رشد وجود دارد (هیت سودا و همکاران، ۲۰۰۵). از طرفی pH بالای خاک‌های آهکی کشور و مشکلات جذب عناصر غذایی مانند فسفر، روی و آهن نیز دلیل خوبی برای توجه به مصرف گوگرد می‌باشد. (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰). استفاده از مواد اسیدزا (گوگرد، اسید سولفوریک و) جهت کاهش pH خاک (حتی به طور موضعی) به عنوان یک روش موثر برای افزایش قابلیت دسترسی عناصر کم مصرف در خاک‌های با pH بالا نتایج سودمندی داشته است. به دلیل سرعت کند اکسایش گوگرد شرط بهره گیری از این توان بالقوه گوگرد، حضور باکتری های اکسید کننده این ماده در خاک است (بشارتی و صالح راستین، ۱۳۸۰). گوگرد توسط باکتری‌های تیوباسیلوس اکسید شده و به اسید سولفوریک تبدیل می‌شود در واقع این باکتری از طریق اکسیداسیون گوگرد، توسط میکروارگانیسم‌های خاکزی اکسید کننده گوگرد، به تغذیه گیاه از نظر گوگرد، جذب بیش‌تر عناصر غذایی چون فسفر، آهن و روی، اصلاح خاک‌های شور سدیمی و سدیمی و متعاقبا افزایش عملکرد گیاه کمک می‌کند (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰).

در راستای دست‌یابی به کودهای زیستی، استفاده از همزیستی ریزوبیومی نقش اساسی دارد که موجب کاهش آلودگی‌های زیست محیطی می‌شود. مقدار سالانه‌ی تثبیت زیستی نیتروژن حدود ۱۷۵ میلیون تن تخمین زده می‌شود (صالح راستین، ۱۳۸۰). مهم‌ترین باکتری‌های همزیست تثبیت کننده نیترورژن *Rhizobium* ها می‌باشند. قرن‌هاست که نقش بقولات در غنی‌سازی حاصلخیزی خاک شناخته شده است. البته اثبات علمی ارزش بقولات در تغذیه‌ی نیتروژن گیاهان فقط در آخر نیمه قرن نوزدهم شد. آزمایش‌ها نشان داد که گره‌های موجود روی ریشه‌ی بقولات، نیتروژن جوی را تثبیت می‌کند (اسدی رحمانی و افشاری، ۱۳۸۴). بادی و رابینر (۱۹۸۸) طی تحقیقات خود نشان دادند که تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد علاوه بر این که باعث کاهش ۳۰ تا ۳۵ درصد مصرف کود نیتروژن می‌شود، دارای اثرات مفید دیگری است که در مقایسه با مقدار مشابه کود نیتروژن شیمیایی، می‌توانند سبب رشد بهتر گیاه تلقیح شده و افزایش مقدار محصول آن می‌گردد. بنابراین می‌توان گفت که تامین عناصر غذایی با استفاده از کودهای زیستی می‌تواند مصرف کودهای

شیمیایی را کاهش و کمبود مواد غذایی را تا حدی جبران کرده، حاصلخیزی خاک حفظ شده و آسیب کم‌تری به محیط زیست وارد شده و تولید پایدار محصول را به همراه داشته باشد. کمبود نیتروژن در خاک موجب پریدگی رنگ یا زردی برگ‌ها، کوچکی و کم رشدی گیاه، پایین بودن تعداد ساقه، کوچکی گل‌ها و بالاخره افت کمیت و کیفیت محصول می‌شود.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- لوبیا چشم بلبلی

لوبیا چشم بلبلی که به انگلیسی آن را Cowpea می‌نامند گیاهی است از خانواده لگومینوز که نام علمی آن *Vigna sinensis* L. است. لوبیا چشم بلبلی یکی از نباتات قدیمی می‌باشد که در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر آفریقا پراکنده است. قدمت کشت این گیاه در ایران به طور دقیق معلوم نیست ولی چون انواع اهلی فراوانی دارد می‌توان استنباط نمود که کشت این محصول از ادوار خیلی قدیم در ایران رواج داشته است. لوبیا چشم بلبلی عمدتا در آفریقا کشت می‌شود و حدود ۹۰ درصد کل اراضی تحت کشت این نبات در آفریقا است (مجنون حسینی، ۱۳۸۳). واریته‌های زودرس آن را در مناطق نیمه گرمسیر شوروی و خاورمیانه می‌توان مشاهده کرد. این گیاه دارای یازده جفت کروموزوم ۲n=۲x=۲۲ است در کنار ارزش غذایی، لوبیا چشم بلبلی دارای تنوع ژنتیکی بالا، تحمل بالا، بهره‌وری بالا و هم‌چنین ظرفیت بالا برای بهره‌گیری از همزیستی با ریزوبیوم برای دریافت بیش‌تر نیتروژن از طریق تثبیت نیتروژن است. با توجه به این صفات، لوبیا چشم بلبلی یک منبع ژنتیکی مهم به‌ویژه برای مناطق نیمه خشک و یک منبع ژن برای پروژه‌های مهندسی ژنتیک است (کلارک و همکاران، ۲۰۰۵)

۲-۲- مبدا، تاریخچه و اهلی شدن

واویلوف هندوستان را به عنوان خاستگاه لوبیا چشم بلبلی و آفریقا و چین را به عنوان مراکز تنوع ثانویه مطرح کرد. بیش‌ترین تنوع لوبیا چشم بلبلی در اتیوپی است. لوبیا چشم بلبلی پراکنش وسیعی در سرتاسر مناطق حاره (حد فاصل ۳۰ درجه شمالی و ۳۰ درجه جنوبی عرض جغرافیایی) به‌ویژه در آفریقا دارد. خارج از آفریقا، این محصول هم‌چنین در آسیا به‌ویژه در هند، استرالیا، کارائیب، جنوب ایالات متحده و مناطق پست و نواحی ساحلی جنوب و مرکز آمریکا کشت می‌شود. گفته می‌شود که کشت و کار لوبیا چشم بلبلی ۳۰۰۰ سال قبل از میلاد در آفریقای مرکزی برقرار بوده، در حالی که لوبیا چشم بلبلی همراه با سورگوم از طریق دریا و هم‌چنین راه‌های زمینی حدود ۱۵ سال قبل از

میلاد به هندوستان رسید که از آن‌جا به چین و آسیای جنوب شرقی راه یافت. ورود این گیاه به اروپا احتمالا حدود ۳۰۰ سال قبل از میلاد و از طریق مصر و ورود آن به دنیای جدید در قرن شانزدهم بوده است (باقری و پارسا، ۱۳۸۷).

۲-۳- تولید لوبیا چشم بلبلی در ایران و جهان

لوبیا به خاطر درصد پروتئین و سایر ویژگی‌های مطلوب زراعی، بیش‌ترین سطح زیر کشت را در بین حبوبات به خود اختصاص داده است (فرخ بخت و همکاران، ۱۳۹۰). در حال حاضر در بسیاری از کشورهای گرمسیر با سطح زیر کشت جهانی ۴/۵ میلیون هکتار کشت می‌شود. تولید آن بیش از ۵/۴ میلیون تن در سراسر جهان گزارش شده است. سطح زیر کشت لوبیا چشم بلبلی در ایران ۱۱۱۰۰۰ هکتار و میزان تولید آن ۲۱۰۰۰۰ تن می‌باشد (رضایی و کامکار حقیقی، ۱۳۸۸). لوبیا چشم بلبلی در مناطق گرمسیری آفریقا، آسیا، آمریکا، اروپا، اقیانوسیه و در ۹۷ کشور جهان رشد می‌کند (مورال و همکاران، ۲۰۱۲). قاره آسیا و آمریکا به ترتیب با بیش از ۴۰ و ۳۰ درصد بالاترین سطح زیر کشت لوبیا را به خود اختصاص داده‌اند (مجنون حسینی، ۱۳۸۷). در مناطق استوایی پس از بادام زمینی و لوبیا سودانی سومین لگوم است (یودو و آکپان، ۲۰۱۲). کشور نیجریه بیش از ۶۰ درصد لوبیا چشم بلبلی دنیا را تولید می‌کند (ساین و همکاران، ۱۹۹۷).

۲-۴- گیاه شناسی لوبیا چشم بلبلی

لوبیا چشم بلبلی گیاهی دو لپه و یکساله است، دارای ساقه بلند و بوته‌ای شکل یا پیچک‌دار می-باشد که نوع اخیر احتیاج به قیم دارد. جوانه‌زنی لوبیا چشم بلبلی به صورت اپی‌جیل است (باقری و پارسا، ۱۳۸۷). لوبیا چشم بلبلی دارای ریشه عمیق با ریشه‌های جانبی پراکنده در سطح خاک است. گره‌های روی ریشه بزرگ، کروی و به اندازه دانه نخود فرنگی و معمولا به صورت گروهی در روی ریشه قرار دارند (مجنون حسینی، ۱۳۸۳). ارقام مختلف آن به شکل پا کوتاه، خوابیده و نیمه پا کوتاه

طبقه بندی می‌شوند. نحوه رشد آن از رشد نا محدود تا انواعی که دارای رشد محدودتر هستند وجود دارد. به‌طور کلی لوبیا چشم بلبلی دارای ریشه عمودی و قوی می‌باشد که طول ریشه اصلی آن به۸۰-۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. البته طول ریشه بستگی به رقم و شرایط محیطی دارد. معمولا گره‌های تثبیت نیتروژن به شکل کروی و مدور به صورت گروهی بر روی ریشه قرار می‌گیرند. اندازه‌ی غده‌ها به اندازه‌ی یک لوبیای کوچک با سطحی صاف است که به تعداد زیاد بر روی ریشه‌ی اصلی و انشعابات اولیه و به تعداد کم‌تر روی ریشه‌های ثانویه قرار می‌گیرند (کریمی، ۱۳۷۵). بیش‌تر رشد ریشه در لایه تحت الارض خاک روی می‌دهد و در زمان وقوع خشکی طول ریشه می‌تواند حداکثر به ۲/۵ متر نیز برسد (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸). لوبیا چشم بلبلی دارای برگ‌های سه برگچه‌ای می‌باشد که بصورت متناوب رشد می‌کنند، رنگ برگ‌ها سبز تیره می‌باشد. برگ‌ها نرم و به ندرت کرک‌دار هستند و عموما برگچه‌های انتهایی بزرگ‌تر از برگچه‌های جانبی هستند و از لحاظ اندازه و شکل برگ تنوع زیادی وجود دارد (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸). بسته به واریته و شرایط کشت، طول ساقه ی آن از ۶۰ تا ۸۰ سانتی‌متر و عرض آن از ۰/۵تا ۱/۵ سانتی‌متر متغیراست. رنگ ساقه‌ی آن زرد، سبز روشن یا قهوه ای است (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). گل آذین لوبیا چشم بلبلی خوشه‌ای جانبی و بطور متناوب در نزدیکی گره‌های ساقه است. گل‌ها معمولا به‌صورت جفتی با تعداد ۴-۲ گل بر روی دمگلی بلند قرار دارد، رنگ گل‌ها سفید، زرد یا بنفش می‌باشند. از خواص جالب گیاه چشم بلبلی این است که اگر گل‌ها در اثر آسیب آفات از بین بروند دوره گلدهی تجدید می‌گردد. گلدهی در لوبیا چشم بلبلی پس از ۵۰ الی ۶۰ روز بعد از کاشت شروع شده و اولین چین محصول را یک ماه بعد از گلدهی می‌توان برداشت نمود (مجنون حسینی، ۱۳۸۳). اگرچه اکثر گل‌ها خودگشن هستند احتمالا کمی دگرگشنی نیز در آن‌ها به‌وقوع خواهد پیوست، به‌خصوص در هوای مرطوب که حشرات رنگ گل‌ها را بهتر تشخیص می‌دهند (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). وجود دو گل بلند وجه تمایز لوبیا چشم بلبلی است و این خصوصیت باعث تسهیل در امر برداشت محصول می‌شود (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸). به طور کلی لوبیا چشم بلبلی نسبت به طول روز بی‌تفاوت است و از هر جوانه گل ۲

تا ۳ غلاف بوجود می‌آید. گاهی چهار غلاف یا بیش‌تر نیز بر روی یک دمگل مشاهده می‌شود. غلاف میوه طویل و باریک و دارای مقطع گردی است. طول غلاف در ارقام مختلف متفاوت، و معمولا بلندتر از غلاف لوبیای معمولی است (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸؛ مجنون حسینی، ۱۳۸۳). غلاف‌های آن پهن یا استوانه ای بوده، نسبتا بلند (۱۰ تا۲۰سانتی‌متر) و به سادگی باز می شوند. غلاف‌های نارس آن سبز یا سبز تیره هستند و انواع رسیده‌ی آن زرد یا قهوه‌ای رنگ می‌شوند. بر روی هر گیاه تقریبا بیش‌تر از ۵۰ غلاف دیده می‌شود و هر غلاف دارای بیش از ۱۶ بذر است (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). در بعضی انواع شکل نیام راست و در بعضی انواع دیگر آویزان است. لوبیا چشم بلبلی دارای نیام بلند و معلق یا آویزان با دانه‌های به طول بیش از یک سانتی‌متر است (کریمی، ۱۳۷۵). وزن هزار دانه‌ی آن بین ۶۰ تا۳۰۰ گرم متغیر است. بذرها بیضوی، گرد یا لوله ای شکل هستند و در انتهای خود علامتی v شکل دارند. سطح بذور صاف و به ندرت چروکیده است. رنگ آن‌ها سفید، زرد، صورتی، قرمز، قهوه ای یا سیاه است (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). بذور آن به شکل کروی یا استوانه و یا قلوه‌ای شکل با سطحی صاف و چروکیده و به رنگ‌های مختلف می‌باشند. رنگ دانه و رنگ چشم در ارقام مختلف متفاوت است و معمولا رنگ‌های سفید یا کرم با چشم یا ناف سیاه، رنگ‌های قرمز، قهوه‌ای روشن تا سیاه نیز در بین آن‌ها دیده می‌شود (مجنون حسینی، ۱۳۸۳).

۲-۴-۱- مراحل رشدی لوبیا چشم بلبلی

لوبیا چشم بلبلی ۱۱ مرحله رشد از جوانه‌زنی تا رسیدگی کامل طی می‌کند. فاز رویشی از زمان جوانه‌زنی تا ظهور اولین گل یعنی حدود ۴۰ روز بعد از کاشت به طول می‌انجامد و فاز زایشی شامل مراحل زیر است:

الف) گل‌دهی: از اولین گل تا شکوفایی کامل ب)تشکیل غلاف: پس از این‌که هفتمین برگ بوجود آمد غلاف‌ها تشکیل شده و شروع به پر شدن می‌کنند. ج)رسیدگی ظاهری و رسیدگی کامل: غلاف‌هایی

که رشدشان کامل شده است و به رنگ سبز تیره هستند. هنگامی‌که غلاف‌ها کامل می‌رسند به قهوه-ای، ارغوانی یا خاکستری تغییر رنگ می‌یابند (پندی و همکاران، ۱۳۸۱).

۲-۵- اکولوژی لوبیا چشم بلبلی

با توجه به اقلیم حاره‌ای بسیار گرم منشا لوبیا چشم بلبلی، این گیاه برای رشد طبیعی خود نیاز به حرارت دارد و این حرارت هیچ‌گاه نبایستی کمتر از ۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد باشد. بیش‌ترین نیاز حرارتی آن در دوره‌ی حدفاصل شکوفه دهی تا رسیدگی است. رسیدگی دانه‌ها چنان‌چه دما کم‌تر از ۱۵ الی ۱۸ درجه سانتی‌گراد باشد به خوبی انجام نمی‌شود. در مقایسه‌ی با دیگر حبوبات گرمسیری، لوبیا چشم بلبلی مقاومت بیش‌تری به هوای خشک دارد اما در صورت خشکی خاک محصول آن شدیدا کاهش می‌یابد. لوبیا چشم بلبلی گیاه روز کوتاه است (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). لوبیا چشم بلبلی نسبت به خشکی هوا مقاوم‌تر از سایر حبوبات می‌باشد و تحمل خوبی نسبت به سایه-اندازی دارد. این محصول در دامنه وسیعی از بافت‌های خاکی از رسی سنگین (در صورتی که زه‌کشی خوبی داشته باشند) تا شنی رشد می‌کند. لوبیا چشم بلبلی بهترین رشد را در خاک‌های کمی اسیدی تا کمی قلیایی (pH=۵/۵-۸/۳) دارد (ولونزئولا و اسمیت، ۲۰۰۲). این گیاه تحمل کمی نسبت به شوری خاک دارد اما نسبت به رشد در خاک‌های با آلومینیوم بالا مقداری تحمل دارد. لوبیا چشم بلبلی همانند سایر حبوبات نسبت به شرایط غرقابی یا زه آب مقاومت ندارد. به خصوص در مرحله جوانه‌زنی نسبت به شرایط غرقابی حساس می‌باشد. یک ماه پس از کاشت، گیاه شروع به شاخه دهی می‌کند و در این موقع گره‌ها بر روی ریشه شروع به تشکیل شدن می‌کنند. رشد زایشی لوبیا چشم بلبلی تحت تاثیر عوامل متعددی قرار دارد که مهم‌ترین آن‌ها شرایط آب و هوایی و دوره نوری می-باشد. کم آبی و یا خشکی باعث تاخیر در گل‌دهی می‌شود. به طور کلی طولانی شدن دوره رشد زایشی باعث افزایش محصول شده و هر چه گیاه زودتر گلدهی خود را آغاز کند، دوره گل‌دهی کوتاه-

تری نیز خواهد داشت. از طرف دیگر شرایط محیطی همانند درجه حرارت بالا و تنش خشکی در هنگام پر شدن دانه طول دوره موثر پر شدن دانه را کاهش می‌دهد. لوبیا چشم بلبلی در دامنه وسیعی از شرایط رطوبت رشد می‌کند. پس از استقرار محصول این گیاه نسبت به خشکی نسبتا متحمل می‌باشد (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸؛ باقری و پارسا، ۱۳۸۷).

۲-۶- ترکیبات شیمیایی دانه‌ی لوبیا چشم بلبلی

دانه لوبیا چشم بلبلی غنی از نظر موادغذایی بوده و برای انسان و دام به مصرف می‌رسد (باقری و پارسا، ۱۳۸۷). دانه لوبیا چشم بلبلی سرشار از پروتئین و سایر مواد غذایی است. بر اساس وزن خشک، دانه آن محتوی ۲۲/۴ درصد پروتئین، ۱/۸درصد چربی و ۶۰/۳ درصد کربوهیدرات (نشاسته) و هم‌چنین فیبر، سدیم، کلسیم و آهن است (مجنون حسینی، ۱۳۸۳؛ کویین، ۱۹۹۷). پروتئین لوبیا چشم بلبلی در مقایسه با غلات غنی از اسیدهای آمینه لیزین و تریپتوفان می‌باشد ولی در مقایسه با پروتئین‌های حیوانی از نظر اسید های آمینه میتیونین و سیستئین فقیر می‌باشد (ارادتمند اصلی و مهر پناه، ۱۳۸۸). این گیاه به سرعت و آسانی پخته می‌شود و مواد سمی و ضد تغذیه‌ای مانند بازدارنده‌های تریپسین و همالگوتنین‌ها و عوامل نفخ‌زا حداقل می‌باشد (گودوراج و صادقی‌پور، ۱۳۸۰).

۲-۷- اهمیت اقتصادی و مورد استفاده

دانه‌ی لوبیا چشم بلبلی منبع مهم پروتئین خوراکی در کشورهای در حال توسعه است. غلاف‌های سبز آن به منظور سبزی خوراکی قابل استفاده قرار می‌گیرند و گاهی دانه‌های آن به صورت کنسرو شده نیز در آمریکا به فروش می‌رسد. در آفریقا برگ‌ها و ساقه‌های جوان آن را معمولا خشک کرده و برای تغذیه در فصول خشکسالی ذخیره می‌کنند. این گیاه در سطح جهان سالانه حدود ۱/۵ تا ۲ میلیون تن بذر خشک تولید می‌کند. از لوبیا چشم بلبلی به عنوان کود سبز، علوفه، سیلو و گیاه

پوششی نیز استفاده می‌کنند (ارادتمند اصلی و مهرپناه، ۱۳۸۸؛ گیامی، ۲۰۰۵). همان‌طور که گفته شد لوبیا چشم بلبلی اغلب به عنوان کود سبز برای اصلاح خاک‌ها کاشته می‌شود که در این حالت آن‌چنان رشد رویشی زیاد دارد که سطح خاک را به‌خوبی پوشانده و مانع فرسایش خاک در مناطق مسئله دار خواهد شد و بعدا نیز با شخم به زیر خاک بردن از آن می‌توان به عنوان کود سبز استفاده نمود (مجنون حسینی، ۱۳۸۳؛ کویین، ۱۹۹۷). این نبات، علوفه‌ی خوبی محسوب می‌شود شاخ و برگ آن ارزش علوفه‌ای بالایی داشته و ارزش علوفه‌ی آن با یونجه قابل مقایسه است و علوفه خشکش قابل هضم‌تر از یونجه است (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۲). علوفه خشک آن محتوی ۱۴ درصد پروتئین، ۴۵/۵ درصد کربوهیدرات، ۴/۱ درصد چربی و ۲۶/۱ درصد سلولز است (کویین، ۱۹۹۷).

۲-۸- اثرات منفی کودهای شیمیایی

کشاورزی مدرن به شدت به نهاده‌های شیمیایی به ویژه کودها و آفت‌کش‌ها وابسته است. کودها در حال تبدیل شدن به اجزای ضروری کشاورزی به منظور تامین مواد غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشند. با این حال استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی می‌تواند موجب بروز اثرات زیست محیطی پیش بینی نشده ای شود. نگرانی‌های بسیاری در مورد سلامت انسان و محیط زیست وجود دارد که با استفاده کم‌تر از کودهای شیمیایی و استفاده از کودهای آلی می تواند رفع گردد (هرزوگ و همکاران؛ ۲۰۰۸). طبق گزارش فائو تخریب منابع آب و خاک، زوال تنوع زیستی کشاورزی، آلودگی هوا و آب به وسیله آفت کش‌ها و کودهای شیمیایی و افزایش مقاومت آفات و بیماری‌ها به سموم شیمیایی، تنها معدودی از مشکلات محیطی هستند که امروز در کشاورزی با آن مواجه هستیم. شواهد موجود حاکی از آن است که پس از سال‌ها روند صعودی، تولید سرانه کشاورزی از دهه ۹۰ به حال رکود در آمده است. این وضعیت به دلیل کاهش رشد عملکرد سالانه همراه با رشد مستمر و تصاعدی جمعیت است (براون، ۱۹۹۷). متاسفانه مصرف کودهای شیمیایی نامتعادل بوده و مطابقتی با نیاز واقعی گیاه ندارد

(ملکوتی، ۱۳۸۴). جدول زیر برخی از پیامدهای منفی مصرف مفرط کودهای شیمیایی را ارائه کرده است.

اثرات زیان آور مصرف بیش از حد کود نیتروژن (بهلول و همکاران، ۱۹۹۲)

اثرات بر سلامت انسان

اثرات	عامل
بیماری مت هموگلوبینمیا در کودکان	زیادی NO_3 و NO_2 در آب و غذا
سرطان	آلکیل های نیتراتی
بیماری های تنفسی	وجود بخارات NO_2 و HNO_3 در جو شهر ها

اثرات بر سلامت محیط زیست

محیط	زیادی نیترات در آب و غذا
مردابی شدن	نیتروژن آلی و معدنی در آب های سطحی
	ذرات HNO_3 در بارندگی

اثرات بر اکوسیستم

سمیت گیاه	مقادیر زیاد NO_2 در خاک
رشد بیش از حد گیاه	مقادیر زیاد نیتروژن دسترس
آسیب لایه ازن	اکسیدهای نیتروژن حاصل از نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون

جدول۲-۱: اثرات زیان آور مصرف بیش از حد کود نیتروژن

۲-۹- تاریخچه‌ی کودهای زیستی

استفاده از منابع زیستی در کشاورزی، دارای قدمت بسیار زیادی است و در گذشته‌ی نه چندان دور، تمام موادغذایی مورد مصرف انسان با استفاده از چنین منابع ارزشمندی تولید می‌شدند. استفاده‌ی بهینه از منابع زیستی نه تنها دارای اثرات سودمندی بر خصوصیات خاک می‌باشد، بلکه از جنبه‌های اقتصادی، اجتماعی و زیست محیطی نیز مفید بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای نهاده‌های شیمیایی باشد (کندی و همکاران، ۲۰۰۴؛ گوسلینگ و همکاران، ۲۰۰۶) کاربرد باکتری‌ها برای افزایش رشد گیاهان در کشاورزی به زمان‌های قدیم باز می‌گردد. تفراستوس (۳۷۲-۲۸۷ قبل از میلاد) بیان کرد که مخلوط خاک‌های مختلف راهی برای درمان کمبودها و افزودن توان خاک است (تیسدال و نلسون، ۱۹۷۵). نخستین کود زیستی به نام نیتراژین در آمریکا حاوی باکتری‌های ریزوبیوم توسط ناب و هیلتنر در سال ۱۸۹۵ برای فروش عرضه شد (صالح راستین، ۱۳۸۰). در همین زمان پژوهشگران در روسیه تلقیح بذور با *Bacillus Spp.* و در سال ۱۹۰۹ تلقیح با *Azotobacter Choococcum* را توصیه نمودند. در سال ۱۹۳۰ موسسه میکروبیولوژی کشاورزی شوروی سابق کاربرد وسیع از *Bacillus megaterium* و ازتوباکتر را آغاز کرد و در سال ۱۹۶۲ تولید صنعتی این باکتری‌ها در سطحی معادل ۳۵ میلیون هکتار استفاده شد (اسدی رحمانی و فلاح نصرت آباد، ۱۳۸۰). دانشمندان چینی در سال ۱۹۴۰ باکتری‌های فسفاتی و تثبیت کننده‌ی نیتروژن را برای تامین نیاز فسفر و نیتروژن گیاهان جداسازی نموده و به کار بردند. استفاده از کودهای زیستی در چین در گستره‌ی وسیعی معادل ۳۹/۳ میلیون هکتار بوده و امروز به بیش از ۶۸ میلیون هکتار رسیده است. این کودها در ۵۰ محصول زراعی استفاده شده و افزایش تولیدی ۲۳-۱۰ را که معادل ۵۹ میلیارد دلار است را موجب شده‌اند. مساحت کل بقولاتی که به طور مصنوعی با مایه‌ی تلقیح کشت می‌شوند به ۲۵۰ میلیون هکتار بالغ می‌شود. سرانه‌ی فروش مایه تلقیح سویا در آمریکا حدود ۱۸ میلیون دلار گزارش شده است (صالح راستین، ۱۳۸۰). سود حاصل از فروش مایه تلقیح سویا در

برزیل ۳/۲ میلیارد برآورد شده است. همچنین ارزش اقتصادی تثبیت نیتروژن در استرالیا حدود ۳۴۰ میلیون دلار است، ضمن این‌که تثبیت نیتروژن در بقولات در تغذیه‌ی نیتروژنی محصول بعدی نیز تاثیر دارد. مایه تلقیح ریزوبیومی تثبیت کننده‌ی نیتروژن جوی است و تا ۴۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار را در شرایط مناسب تثبیت می‌کند (اسدی رحمانی و افشاری، ۱۳۸۴)، از بارزترین انواع کود-های زیستی است. برخی کودهای زیستی حاوی باکتریایی هستند که بر تغذیه‌ی عنصری گیاه تاثیر ندارند، بلکه با تولید هورمون‌های محرک رشد و ویتامین‌ها بر رشد گیاه اثر می‌گذارند. در چند سال اخیر، تعدادی از کودهای زیستی که اکثرا توسط پژوهشگران بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب به ثبت رسیده‌اند، پس از انتقال دانش فنی به بخش خصوصی، وارد مرحله‌ی تولید انبوه شده‌اند (بی نام، ۱۳۸۲).

۲-۱۰- کودهای زیستی

امروزه با جستجوی عبارت "کود زیستی" در شبکه‌ی اینترنت، با تعداد بی‌شماری سایت اینترنتی با تفاسیر بی‌شمار از این اصطلاح روبرو می‌شوید (وسی، ۲۰۰۳). این سایت‌ها کود زیستی را به عنوان هر چیز از عصاره‌ی علف‌های دریایی گرفته تا فاضلاب شهری کمپوست شده، تعریف می‌کنند. علاوه بر آن، مقالات علمی هم تعبیر بسیار گسترده‌ای از " کود زیستی" دارند که شامل همه چیز از کود-های سبز (ونتورا و لدها، ۱۹۹۷) تا کود حیوانی (عبدالمجید و همکاران، ۱۹۹۵) و عصاره‌های گیاهی می‌شود (زوداپ، ۲۰۰۱). وسی (۲۰۰۳) بیان کرد که کود زیستی ماده‌ای است که دارای ریز موجودات زنده‌ای است که زمانی که با بذر، سطح گیاه، یا در خاک به کار می‌روند، منطقه‌ی رشد ریشه در خاک یا داخل گیاه را اشغال کرده و رشد گیاه را با تامین یا دسترسی برخی عناصر ضروری، تحریک می‌کنند. تعریف Biofertilizer برگرفته از خلاصه سازی عبارت Biological Fertilizer است. بیولوژی عبارت است از مطالعه موجودات زنده و کود زیستی باید شامل موجودات زنده‌ای باشد

که وضعیت عناصر غذایی گیاه میزبان را بهبود دهند. عبارت" کود زیستی " نباید جای کود سبز، کود دامی یا مکمل‌های آلی کود شیمیایی به کار برده شود (وسی، ۲۰۰۳). اضافه شود که عبارت کود زیستی در اواخر دهه ۱۹۷۰ در نوشته‌های علمی به طور عام مورد استفاده قرار گرفت. کود زیستی به ماده‌ای جامد، مایع یا نیمه جامد حاوی موجودات زنده یا متابولیت‌های آن‌ها اطلاق می‌شود که قادر است به نحوی باعث افزایش عملکرد، تامین یک یا چند عنصر غذایی مورد نیاز گیاه و یا بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی خاک شود (اگامبردیوا، ۲۰۰۷؛ شارما و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین در توسعه و کاربرد تکنیک‌های کشاورزی پایدار، کودهای زیستی اهمیت زیادی در کاهش آلودگی محیط زیست و زوال طبیعت دارد (الکوکا و همکاران، ۲۰۰۸).

رایج‌ترین این کودها با استفاده از ارگانیسم‌های مربوط به گروه‌های زیر تهیه می‌شوند:

۱- باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن ۲- قارچ‌های میکوریزا ۳- باکتری‌های محرک رشد (PGPR) ۴- میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات نامحلول ۵- میکروارگانیسم‌های تبدیل کننده موادآلی زاید به کمپوست ۶- کرم‌های خاکی تولید کننده ورمی کمپوست (غیبی و ملکوتی، ۱۳۸۳).

مزایای استفاده از کودهای زیستی نسبت به کودهای شیمیایی عبارتند از (گلود، ۱۹۹۰)

۱- مخاطرات کودهای زیستی از بسیاری از کودهای شیمیایی کم‌تر است. ۲- خود تکثیری بسیاری از آن‌ها موجب می‌شود تا در بسیاری از موارد نیازی به استفاده‌ی دوباره از آن‌ها نباشد. ۳- کودهای زیستی می‌توانند به عنوان موید حفاظت کننده‌ی گیاه در برابر آفات و بیماری‌ها عمل کنند. ۴- کود-های زیستی عمدتا آسیبی به فرآیندهای اکولوژیک و محیط زیست وارد نمی‌کنند.

نتایج برخی تحقیقات اخیر نشان داده است که کودهای زیستی ضمن افزایش قابلیت دسترسی عناصرغذایی برای گیاه، باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و همچنین افزایش محتوای ماده آلی و نیتروژن قابل دسترس گیاه همزیست می‌شوند (جهان و همکاران، ۲۰۱۰).

از انواع کودهای زیستی می‌توان به قارچ‌های میکوریزایی و باکتری‌های ریزوبیوم و تیوباسیلوس اشاره کرد که امروزه کاربرد فراوانی در سیستم‌های کشاورزی پایدار به منظور دست یابی به افزایش کیفیت و پایداری عملکرد محصولات زراعی و باغی دارند.

۲-۱۱- تثبیت زیستی نیتروژن

در هوا مقدار زیادی نیتروژن وجود دارد، اما این نیتروژن به شکلی است که گیاه نمی‌تواند از آن استفاده کند. بعضی از باکتری‌ها، قادرند نیتروژن جوی را به آمونیاک تبدیل کنند و آن را به عنوان منبع نیتروژن خود مورد استفاده قرار دهند. به این فرآیند، تثبیت زیستی نیتروژن گفته می‌شود. گیاهان نمی‌توانند این عمل را انجام دهند، اما برخی از آن‌ها می‌توانند آلودگی ریشه خود به باکتری-های تثبیت کننده‌ی نیتروژن را بپذیرند و آن را کنترل کنند. این باکتری‌ها نیتروژن (آمونیاک) مورد نیاز گیاه را تامین می‌کنند و گیاه نیز در مقابل، انرژی مورد نیاز باکتری‌ها را در قالب ترکیب‌های آلی تامین می‌کند. مثال‌های متعددی از چنین رابطه‌ی دو جانبه‌ی سودمندی (همزیستی) در بقولاتی هم‌چون شبدر، یونجه، نخود و لوبیا وجود دارد (پیپلز و همکاران، ۱۹۹۵)، اما هنگامی که مقدار زیادی نیتروژن از یک یا چند منبع دیگر وجود داشته باشد، این مقدار کاهش می‌یابد. بقایای بقولات باید قبل از اینکه سایر محصولات بتوانند از نیتروژن آن استفاده کنند، تجزیه شود. انتقال مستقیم نیتروژن بین بقولات زنده و گیاهان مجاور به ندرت رخ می‌دهد (پیپلز و گراسول،۱۹۹۲؛ مارتینسون و همکاران، ۱۹۹۸). نیتروژن جو از طریق تثبیت وارد چرخه نیتروژن می‌شود. نیتروژن به وسیله‌ی برخی باکتری‌ها، واکنش با اکسیژن در درجه‌ی حرارت‌های بالا (در هنگام رعد و برق) و در تولید صنعتی کود تثبیت می‌شود. مقدار نیتروژنی که در ریشه گیاهان خانواده بقولات تثبیت می‌گردد بستگی به تعداد، اندازه و قابلیت تثبیت گره‌ها، گونه یا نژاد باکتری، نوع گیاه و مدیریت زراعی و شرایط رشد به خصوص pH و نیتروژن بستگی دارد و بین چند ده تا صد کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال متغیر می‌باشد. هر چه تعداد گره‌ها زیادتر، اندازه آن‌ها بزرگ‌تر و باکتری‌های درون آن‌ها

فعال‌تر باشند مقدار بیش‌تری نیتروژن تثبیت می‌شود. قدرت تثبیت گونه‌های باکتری‌ها در تثبیت نیتروژن نیز بستگی به سازگاری این باکتری‌ها با میزبان دارد. وقتی گیاه سالم و مواد غذایی لازم برای نمو آن فراهم باشد بهتر گره می‌بندد و مقدار بیش‌تری نیتروژن تثبیت می‌گردد. مقدار نیتروژن تثبیت شده توسط همزیستی باکتری و گیاه میزبان وابستگی بسیار زیادی به تامین مواد فتوسنتزی دارد. وقتی تولید فتوسنتزی گیاه میزبان اندک باشد، تثبیت نیتروژن کاهش می‌یابد، در حالی که افزایش تولید فتوسنتزی (مثلا در اثر افزایش غلظت CO_2 محیط) می‌تواند تثبیت نیتروژن را به سه برابر افزایش دهد. دمای خاک و مقدار آب آن نیز نقش مهمی در تثبیت نیتروژن دارند. واکنش فعالیت نیتروژناز به دما از طریق دمای متداول در محیط زندگی گیاه میزبان تنظیم می‌شود (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۸؛ کوچکی و سرمدنیا، ۱۳۸۴). هم‌چنین حساسیت زیادی به سایر عوامل محدود کننده‌ی گره مانند نرخ بالای کود نیتروژن مورد استفاده، کشاورزی فشرده، درجه حرارت بالا و خشکی خاک دارند (گراهام، ۱۹۸۱؛ گیلر و کادیش، ۱۹۹۵). تخمین مقدار واقعی نیتروژن تثبیت شده بوسیله بقولات در شرایط مزرعه بسیار مشکل است زیرا ضمن دریافت نیتروژن خاک، مقدار زیادی نیتروژن به صور مختلف از دست می‌دهد. شاید از روی مقدار نیتروژن موجود در گیاه، بتوان تخمین نسبی از مقدار نیتروژن تثبیت شده را بدست آورد (جهان و نصیری محلاتی، ۱۳۹۱؛ غلامی و بیاری، ۱۳۸۶). این فرآیند توسط میکروارگانیسم‌های تثبیت کننده نیتروژن انجام می‌گیرد این میکروارگانیسم‌های خاکزی شامل باکتری‌ها، جلبک‌های سبز- آبی و .... می‌باشند که به دو صورت نیتروژن را تثبیت می‌کنند:

الف-تثبیت غیرهمزیست: توسط میکروارگانیسم‌هایی که در سطح ریشه گیاه میزبان و در خاک ریزوسفری از نیتروژن گازی به صورت مستقل و مستقیم در خاک استفاده می‌کنند، انجام می‌گیرد. باکتری‌های آزادزی مانند: ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و پسودوموناس و .... است.

ب:تثبیت همزیست: توسط میکروارگانیسم‌هایی که با مستقر شدن درون بافت ریشه گیاه و تشکیل اندام هوایی خاص با گره‌ها تثبیت نیتروژن را به اتمام می‌رسانند و از نیتروژن گازی به صورت غیر مستقیم و با اثر میکروارگانیسم‌های دیگر در خاک استفاده می‌کنند، انجام می‌گیرد. باکتری‌هایی مانند ریزوبیوم، آزوریزوبیوم، برادی ریزوبیوم، سینوریزوبیوم، مزوریزوبیوم است (امتیازی، ۱۳۸۶؛ مارتینز و همکاران، ۲۰۰۰).

۲-۱۲- ریزوبیوم

اولین مطالعه روی باکتری‌های همزیست بقولات مربوط به بررسی بجرینگ در سال ۱۸۸۸ می-باشد. او توانست باکتری‌های همزیست را از گره‌های باقلا جداسازی و خالص نماید و از کشت خالص آن‌ها جهت تلقیح باقلا در خاک استریل استفاده کند. این زمان در واقع نقطه عطفی در مطالعات ریزوبیوم بود. تولید تجاری مایه تلقیح ریزوبیومی در سال ۱۸۹۶ توسط ناب و هیلتنر به ثمر رسید و در ظروف شیشه‌ای به بازار عرضه شد (باقری و پارسا، ۱۳۸۷). نام ریزوبیوم در سال ۱۸۸۹ توسط فرانک پیشنهاد و در سال ۱۹۲۶ رسما برای باکتری‌های همزیست بقولات که تثبیت کننده نیتروژن هستند، پذیرفته شد. در این طبقه بندی (۱۹۲۹), ریزوبیوم‌ها در یک جنس و پنج گونه به نام‌های *R. leguminosarum*، *R. japonicum*، *R.meliloti*، *R.trifoli*، *R.phaseoli* طبقه بندی شده-اند. این طبقه بندی بر اساس قابلیت گره‌زایی این باکتری‌ها بر روی گیاهان میزبان استوار بوده است و لذا همواره از طریق متخصصان میکروبیولوژی با سوال مواجه بوده است. علاوه بر آن، با مشخص شدن برخی روابط همزیستی در دهه ۱۹۹۰ این طبقه بندی با شک و تردیدهایی مواجه شده است و به تدریج عواملی چون سرعت رشد، تولید اسید و باز، واکنش‌های سرولوژیک و نسبت بازهای موجود در DNA، در طبقه بندی آن‌ها دخالت داده شده است (باقری و پارسا، ۱۳۸۷؛ لورک و همکاران، ۱۹۹۶).

Rhizobium ها از مهم‌ترین باکتری‌های همزیست تثبیت کننده نیتروژن می‌باشند. ریزوبیوم‌ها شناخته شده‌ترین جنس گروهی از باکتری‌هاست که تثبیت کننده همزیستی نیتروژن می‌باشند. ریزوبیوم‌ها، موجودات هوازی اجباری هستند که در خاک مناطقی که گیاهان میزبان آن‌ها رشد می-کنند، یافت می‌شوند. آلوده شدن گیاهان جوان میزبان به ریزوبیوم‌ها و تشکیل گره در ریشه آن‌ها توسط زنجیری از علایم که توسط ژن‌های باکتری کنترل می‌شود، القا می‌شود (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۸). این باکتری‌ها گرم منفی و متحرک و میله‌ای می‌باشند و در حالت آزاد قادر به تثبیت نیتروژن نمی‌باشند و برای تثبیت نیتروژن نیاز به گیاه میزبان دارند. ریزوبیوم‌ها دارای ۱۲ جنس و ۵۷ گونه می‌باشند و بیش‌تر آن‌ها متعلق به خانواده *Rhizobiales* هستند. باکتری‌ها ریشه‌های گیاهان خانواده لگومینوز را آلوده کرده و باعث تشکیل گره‌های کوچکی بر روی ریشه‌های آن‌ها می‌شوند که در داخل این گره‌ها تثبیت نیتروژن انجام می‌شود. در بررسی دقیق گره‌های لگوم‌ها، مواد داخلی آن‌ها به رنگ صورتی دیده می‌شود. این رنگ به علت وجود رنگدانه لگ هموگلوبین می‌باشد. لگ هموگلوبین تنها در گره‌های ریشه گیاهان تثبیت کننده نیتروژن وجود دارد و توسط هیچ باکتری و یا گیاهی که به تنهایی رشد می‌کند تولید نمی‌شود. در این سیستم همزیستی باکتری، نیتروژن احیا شده برای گیاه میزبان فراهم می‌آورد و از طرف دیگر گیاه میزبان مواد غذایی و انرژی برای فعالیت باکتری فراهم می‌سازد (جهان و نصیری محلاتی، ۱۳۹۱؛ ووزه و همکاران، ۱۹۸۴).

۲-۱۳- فاکتورهای موثر بر گره‌زایی و همزیستی ریزوبیوم

عوامل بسیار زیادی می‌توانند بر رشد و ماندگاری دی ازوتروف‌ها اثر بگذارند، بنابراین، به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر تثبیت نیتروژن اثر می‌گذارند، از بین این عوامل می‌توان به عرضه‌ی فسفر کافی (تثبیت نیتروژن به مقدار زیادی فسفر نیاز دارد)، مواد غذایی غیر آلی دیگر، به خصوص عناصر کم مصرف (آهن، سولفور و مولیبدن) و میزان اسیدی یا قلیایی بودن محیط و تهویه مناسب خاک، درجه حرارت، نوع خاک و حاصلخیزی آن و نسبت کربن به نیتروژن خاک اشاره کرد (شمس الدین،

۲۰۰۷؛ موریرا و سیکویرا، ۲۰۰۶). ریزوبیوم‌ها در دماهای بین ۲۵ تا ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به طور مطلوبی رشد می‌کنند. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که در خاک با دمای بالاتر از ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در تابستان، ریزوبیوم‌های تلقیح شده در عمق ۵ سانتی‌متری لایه سطحی خاک از بین می‌روند. خاک‌های دارای رس یا موادآلی زیاد ممکن است نقش حفاظت کننده‌ای علیه اثرات شدید دمای بالا داشته باشند. نتایج برخی گزارش‌ها نیز نشان می‌دهد که ریزوبیوم‌هایی که در خاک‌های با دمای بالا سازگار شده‌اند، قادرند حتی تا دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت در آزمایشگاه رشد کنند (باقری و پارسا، ۱۳۸۷).

۲-۱۴- اثر ریزوبیوم بر گیاهان

به طور کلی جمعیت ریزوبیوم در خاک‌هایی که در آن‌ها گیاه میزبان‌شان سابقه کشت طولانی دارد، بیش‌تر است. البته همزیستی موثر نتیجه سازگاری طرفین همزیستی است. در این ارتباط تلقیح، جمعیت نژاد سازگار و موثرتر را در محیط ریشه افزایش می‌دهد و این خود در بهبود گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن موثر است (باقری و پارسا، ۱۳۸۷). هم‌چنین این باکتری‌ها با سنتز انواع ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه رشد و کیفیت محصول را افزایش و از طریق فرآیندهای مختلف باعث ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاهان می‌شوند. این مقاومت باعث می‌شود گیاه تنش‌های محیطی مانند عدم تهویه، آلودگی به عناصر سنگین، شوری، تنش‌های خشکی، آفات و بیماری‌ها را تحمل کند (احمد و همکاران، ۲۰۰۶). از فعالیت‌های مفید دیگر ریزوبیوم‌ها می‌توان به توانایی انحلال فسفات - های آلی و معدنی، اثرات مثبت بر مورفولوژی ریشه، بهبود رابطه همزیستی با میزبان و تحریک ایجاد همزیستی میکوریزایی اشاره کرد (وسی، ۲۰۰۳). پژوهش سیوارمیه و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد تلقیح نخود با باکتری ریزوبیوم سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی و عملکرد گیاه می‌شود. هم-چنین در خاک‌های با جمعیت کم باکتری (کم‌تر از ۱۰ باکتری در گرم خاک) تلقیح سبب افزایش حدود ۸۰ درصد محصول سویا شده است. نتایج بررسی‌ها در سودان نشان داد که تلقیح باقلا با

ریزوبیوم، عملکرد و وزن صد دانه باقلا را به طور قابل توجهی افزایش داده است (ال شیخ و ال زیدانی، ۱۹۹۷).

۲-۱۵- باکتری تیوباسیلوس

تیوباسیلوس، گروهی از باکتری‌های گرم منفی و هوازی می باشد که انرژی مورد نیاز خود را از طریق اکسیداسیون ترکیبات غیرآلی گوگرددار تأمین می‌نماید. این باکتری‌ها قادر به اکسیداسیون ترکیبات گوگرد دار می باشند. تیوباسیلوس‌ها نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آبشویی ترکیبات معدنی به خصوص گوگرد داشته و منجر به بازگشت ترکیبات فلزی می شوند (بشارتی، ۱۹۹۸ ؛ جهان و نصیری محلاتی، ۱۳۹۱؛ پاتیراتنا و همکاران، ۱۹۸۹). این باکتری اسید دوست بوده و اکسیداسیون سولفید آهن به سولفات فریک یا اسید سولفوریک را تسریع می کند که در این کار حجم زیادی از سلول های این باکتری برای اکسیداسیون سریع آهن به کار می رود (گومز و همکاران، ۲۰۰۰). تیوباسیلوس یکی ازمهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه است. بسیاری از محققین نیز گزارش کرده اند اکسیداسیون گوگرد و تولید اسید سولفوریک باعث کاهش pH خاک و افزایش دسترسی فسفر و عناصر کم مصرف می شود و باکتری تیوباسیلوس باعث تسریع این فرآیند می شود (استمفورد و همکاران، ۲۰۰۵؛ گارسیا، ۱۹۹۲). خاک‌های آهکی و قلیایی با غلظت زیاد یون کلسیم و pH بالا، عناصر غذایی چون فسفر، آهن و روی را تثبیت کرده و به رغم وجود مقادیر فراوان این عناصر در خاک، به دلیل کمبود قابلیت جذب آن‌ها، سبب کاهش رشد گیاه می‌شود (تیسدال و همکاران، ۱۹۹۳). برای رفع این مشکل، استفاده از گوکرد به عنوان ماده اسیدزا و هم‌چنین کاربرد این ماده در اصلاح خاک‌های سدیمی و نیز کنترل و مبارزه با برخی عوامل بیماری زای گیاهی به علت صرفه ی اقتصادی بسیار متداول است (روپلا و تائورا، ۱۹۷۳). در شرایط هوازی باکتری‌های شیمیوسنتزکننده مسئول اکسیداسیون هستند. بعضی از باکتری‌های هتروتروف، اکتینومیست‌ها و قارچ‌ها دارای توانایی اکسیداسیون سولفید هیدروژن می‌باشند. با این‌حال اکسیداسیون گوگرد عنصری

به طور عمده توسط گونه های شیمیوسنتزکننده تیوباسیلوس انجام می‌شود. علاوه بر گوگرد عنصری، سولفیدها، تیوسولفات وتتراتیونات نیز به سولفات اکسیده می‌شوند. تیوباسیلوس‌ها می‌توانند اثرات قابل ملاحظه ای بر pH محیط داشته باشند. به‌علت تولید اسید توسط تیوباسیلوس حلالیت عناصر افزایش یافته و قابلیت دسترسی آن‌ها تسهیل می‌گردد (فلاح و همکاران، ۲۰۱۰). تیوباسیلوس نقش مهمی در اکسیداسیون گوگرد در خاک بازی می‌کند. اکسیداسیون گوگرد مهم‌ترین مرحله‌ی چرخه‌ی گوگرد است که حاصل‌خیزی خاک را بهبود می‌بخشد این فرم از سولفات است که می‌تواند توسط مواد مغذی گیاهان حل شده و به قلیایی شدن خاک کمک می‌کند. این باکتری می‌تواند مواد معدنی خاک را از طریق تولید H_2SO_4 اکسید کند و مواد مغذی مانند منیزیم، آلومینیوم، منگنز، پتاسیم و فسفر را برای گیاهان کشت شده قابل دسترس می‌کند (ال تاربیلی و همکاران، ۲۰۰۶). اکسیداسیون گوگرد در خاک عموما توسط دو گروه از ریزموجودات اتفاق می‌افتد. گروه اول شامل انواع هتروتروف‌های خاک بوده که از مواد آلی به عنوان پیش ماده‌ی کربن برای تامین انرژی و کربن مورد نیاز خود استفاده کرده و به عنوان یک واکنش ضمنی، گوگرد را نیز اکسید می‌کنند (استارکی، ۱۹۶۶).

گروه دوم شامل انواع اتوتروف‌های خاک بوده که انرژی مورد نیاز خود را از اکسیداسیون گوگرد تامین می‌کنند (تات، ۱۹۹۵). باکتری‌های اکسید کننده گوگرد یک اثر قابل توجه زیست محیطی دارند. این باکتری‌ها در دسترس بودن عنصر گوگرد را توسعه می‌دهند و در خاک از طریق اکسیداسیون سولفات، هم‌چنین به انحلال سایر عناصر غیر قابل دسترس خاک مانند فسفر کمک می-کند (ال تاربیلی، ۲۰۰۶). بیش‌تر تحقیقات گزارش شده نشان می‌دهد که تیوباسیلوس یک نقش کلیدی در روند تجزیه پذیری زیستی بازی می‌کند (وی و همکاران، ۲۰۱۰؛ هایل و نخلا، ۲۰۰۹). باکتری‌های تیوباسیلوس این توانایی را دارند که ترکیبات گوگرد آلی و غیر آلی را در حضور اکسیژن، دی اکسید کربن و رطوبت اکسید کنند (وی و همکاران، ۲۰۱۰). محصول نهایی باکتری اکسید کننده گوگرد اسیدسولفوریک است (رابرت و همکاران، ۲۰۰۲). اثر اکسیداسیون گوگرد به اندازه ذرات

اکسیداسیون گوگرد (لفروی و همکاران، ۱۹۹۷) و شرایط محیطی خاک مانند درجه حرارت و رطوبت (جاگی و همکاران، ۲۰۰۵) بستگی دارد.

۲-۱۵-۱- اکسیداسیون گوگرد:

استفاده ازگوگرد به منظور اصلاح خاک‌های سدیمی و شور سدیمی، کنترل برخی از عوامل بیماری‌زای گیاهی و هم‌چنین کاهش pH خاک (حتی به صورت موضعی) و افزایش حلالیت عناصر غذایی (به‌ویژه در خاک‌های آهکی) متداول است. استفاده از گوگرد هنگامی موثر و نتیجه بخش خواهد بود که پس از استفاده در خاک، به مقدار کافی اکسید گردد. اکسیداسیون گوگرد به دو شکل شیمیایی و بیولوژیک صورت می‌گیرد که اکسیداسیون شیمیایی آن به دلیل کند بودن واکنش اهمیت چندانی ندارد. حضور جمعیت کافی از میکروارگانیسم‌های اکسید کننده گوگرد در خاک موجبات تشدید اکسیداسیون گوگرد، کاهش pH خاک، افزایش حلالیت عناصر غذایی و در نتیجه افزایش رشد گیاهان را فراهم می‌کند (بشارتی، ۱۳۷۷). طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها قادر به اکسیداسیون گوگرد می‌باشند ولی آن‌چه در مورد استفاده از این میکروارگانیسم در تهیه کودهای زیستی گوگردی اهمیت دارد عبارتند از این‌که:

۱- میکروارگانیسم‌های اکسید کننده گوگرد، بومی خاک باشد. ۲- فرآیند تکثیر و تولید اقتصادی و قابل اجرایی داشته باشد. ۳- قابلیت اکسیداسیون گوگرد عنصری را داشته و ترجیحا از قدرت اکسید کنندگی سایر ترکیبات حد واسط نیز برخوردار باشد. ۴- از قدرت اکسیداسیون قابل قبولی در شرایط خاکی مورد نظر برخوردار باشد. ۵- در صورت نیاز، بدون کاهش قابل ملاحظه‌ای در قدرت اکسیداسیون گوگرد، با مواد متنوعی (برای فرموله کردن کود) قابل اختلاط باشد. ۶- قدرت ماندگاری و سازگاری خوبی در شرایط خاکی مورد نظر داشته باشد. ۷- واکنش منفی دیگری نداشته باشد.

۲-۱۶- قارچ میکوریزا

فسفر یکی از عناصر عمده‌ی محدود کننده‌ی ریشه گیاهان است که به سرعت بعد از اضافه شدن به خاک به شکل کودهای محلول رسوب می‌کند و بنابراین، دسترسی آن برای گیاهان کم‌تر می‌شود. قارچ‌های میکوریزایی با طیف وسیع از سایر ارگانیسم‌های خاک در ریشه و ریزوسفر و در توده خاک تعامل دارند. این تعاملات ممکن است مهار کننده یا تحریک کننده باشد، بعضی به وضوح رقابتی و بعضی دیگر ممکن است همیاری باشد. اگرچه قارچ میکوریزای آرباسکولار قادر به تثبیت نیتروژن جو نیست اما آن‌ها برای افزایش تثبیت نیتروژن و تعامل مثبت با تثبیت کننده نیتروژن شناخته شده هستند (ژو و میلر، ۲۰۰۳؛ لانگلی و همکاران، ۲۰۰۵). قارچ میکوریزای آرباسکولار می‌تواند با ۸۰٪ گیاهان ارتباط همزیستی داشته باشد که در آن قارچ به ازای مصرف ۲۰٪ کربوهیدرات مواد مغذی معدنی خاک و آب به گیاه میزبان عرضه می‌کند (اسمیت و رید، ۲۰۰۸). قارچ‌های میکوریزا از مهم-ترین ریز موجودات اغلب خاک‌های تخریب نشده هستند، به طوری که حدود ۷۰ درصد از توده‌ی زنده‌ی جامعه‌ی میکروبی خاک‌ها را میسیلیوم این قارچ‌ها تشکیل می‌دهد (آلن، ۱۹۹۱؛ موکرجی و کومالا، ۲۰۰۳). قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش توانایی گیاه میزبان در جذب فسفر و عناصر معدنی از خاک، به‌ویژه از منابع غیر قابل دسترس آن‌ها می‌شوند. از آن‌جا که اکثر گیاهان مورد استفاده در تغذیه‌ی انسان و دام دارای همزیستی میکوریزی می‌باشند، با انتخاب و به کارگیری بهترین ترکیب گیاه میزبان و قارچ همزیست می‌توان به نحو موثری از این همزیستی در افزایش تولید محصولات کشاورزی استفاده کرد (آبوت و رابسون، ۱۹۹۱). گیاهانی که دارای همزیستی میکوریزی می‌باشند به دلیل این‌که عناصر غذایی و آب بیش‌تری از خاک جذب می‌کنند دارای رشد بهتری خواهند بود، عملکرد بیش‌تری خواهند داشت و مقاومت بیش‌تری در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماری‌زا که ریشه گیاهان را مورد حمله قرار می‌دهند) و غیر زنده (خشکی، سرما و شوری) از خود نشان می‌دهند. همزیستی میکوریزایی از رایج ترین و سابقه دار ترین روابط همزیستی در سلسله گیاهان است که در

اکثر اکوسیستم‌ها وجود دارد به طوری که اکثر گیاهان (در حدود ۹۵ درصد گونه‌های گیاهان آوندی) لااقل یکی از تیپ‌های میکوریزا را دارا هستند (اردکانی و همکاران، ۱۳۷۹).

۲-۱۶-۱- تاریخچه میکوریزا

واژه میکوریزا اولین بار از سوی فرانک در سال ۱۸۸۵ ارائه شد. میکوریزا از دو کلمه (Myco) به معنی قارچ و (Rhiza) به معنی ریشه تشکیل شده است. میکوریزا نشان دهنده مشارکت در همزیستی بین قارچ و ریشه گیاه میزبان می‌باشد (آستارایی و کوچکی، ۱۳۷۵). در این سیستم قارچ پوشش گسترده‌ای از رشته‌های نخ مانند به هم تابیده به نام میسیلیوم را در اطراف ریشه گیاه میزبان تشکیل می‌دهد. در این همزیستی قارچ قند، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و برخی مواد آلی دیگر را از میزبان دریافت و در مقابل معدنی و بیش‌تر از سایر مواد فسفات را خاک جذب و در اختیار گیاه قرار می‌دهد (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰). اکثر گیاهان قادر به تشکیل سیستم میکوریزایی هستند، به‌طور کلی ۸۳ درصد از دولپه‌ای‌ها و ۷۹ درصد از تک‌لپه‌ای‌ها قادر به تشکیل سیستم میکوریزایی هستند. تعداد محدودی از گیاهان زراعی قادر به تشکیل سیستم میکوریزایی نیستند و بیش‌تر این گیاهان از خانواده‌های *Cruciferae*، *Chenopodiaceae* و *Polygonaceae* می‌باشند (ال نیومن و ردل، ۱۹۸۷).

۲- ۱۶- ۲- نقش میکوریزا در تغذیه گیاهان

قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار، همزیست‌های اجباری هستند. آن‌ها توانایی ساپروفیتی محدودی دارند و از نظر تغذیه کربنی به‌طور کامل به گیاه میزبان وابسته می‌باشند. این قارچ‌ها مواد فتوسنتزی را به صورت هگزوز، فروکتوز و ساکاروز از گیاه میزبان خود دریافت می‌کنند. انتقال کربن از گیاه به قارچ ممکن است از طریق آرباسکول‌ها و یا میسلیوم‌های درون ریشه انجام شود. سنتز مواد ثانویه از هگزوز، توسط قارچ در میسلیوم‌های درون ریشه انجام می‌گیرد (جهان و نصیری محلاتی، ۱۳۹۱). قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار از میکروارگانیسم‌های مهم ریزوسفری هستند. آن‌ها می‌توانند

جذب عناصر غذایی گیاهی به‌ویژه عناصر غیر متحرک مانند فسفر، روی و مس را افزایش دهند (ریان و آنگوس، ۲۰۰۳) و در نتیجه بیوماس ریشه و ساقه‌ی گیاه را بهبود می‌بخشند. مهم‌ترین عمل میکوریزا، جذب فسفر است و عامل بقای گیاه در خاک‌هایی است که کمبود فسفر دارند. به طور کلی میزان جذب به گونه و نژاد قارچی و ساختمان میکوریزا و عوامل محیطی بستگی دارد. برخی از محققین اعتقاد داشتند که گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی از مقدار معینی از فسفر خاک استفاده می کنند و میسیلیوم‌های قارچی فقط سطح بیش‌تری را برای جذب ایجاد می‌کنند و بهره-وری از یک حجم زیاد خاک را ممکن می‌سازند. اما نتایج تحقیقات بعدی نشان داد که گیاهان میکوریزایی تا حدی به منابع فسفر محلول دسترسی دارند (شنوی و کلاگودی، ۲۰۰۵).

۲-۱۶-۳- مزایای تلقیح قارچ میکوریزا

۱. موجب افزایش جذب آب و مواد غذایی به ویژه فسفر و انتقال آن به سلول‌های گیاهان می-شود.
۲. موجب بهبود پایداری (ثبات) خاک و نگه‌داری خاک به وسیله گلومالین می‌شود.
۳. افزایش مقاومت گیاه در برابر سمیت ناشی از فلزات سنگین در خاک را موجب می-شود.
۴. موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های خشکی می‌شود (استمفورد و همکاران، ۲۰۰۷؛ حسین و همکاران، ۲۰۱۲).

قارچ‌های خاک‌زی میکوریزا با ساختمان خاص خود توان ارتباط با ریشه‌های گیاه را دارا هستند. میکوریزا امکان تهیه‌ی قند برای قارچ را به وسیله‌ی ریشه‌ی گیاه مهیا ساخته و در مقابل قارچ، آب و موادغذایی را برای گیاه فراهم می‌سازد (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۶).

۲-۱۶-۴ طبقه بندی قارچ‌های میکوریزا و چگونگی برقراری همزیستی

اولین تقسیم‌بندی میکوریزا به دو گروه اندو تروفیک و اکتو تروفیک می‌باشد. در حال حاضر طبقه بندی بر اساس نوع رابطه‌ی قارچ و گیاه و چگونگی ارتباط بین ریسه قارچ با سلول ریشه‌ی گیاه صورت می‌پذیرد. بدین ترتیب دو دسته اندومیکوریزا و اکتومیکوریزا وجود دارد. اختلاف این دو گروه در چگونگی نفوذ قارچ به درون سلول میزبان و ایجاد حالت‌های گوناگون قارچی و ساختمان آن در سلول میزبان است.

۲-۱۶-۴-۱- قارچ‌های اکتومیکوریزا

این قارچ‌ها به درون سلول‌های ریشه وارد نمی‌شوند و به همین دلیل به آن‌ها اکتو (بیرونی) اطلاق می‌شود. ریسه‌های این قارچ در فضای بین سلول‌های پوست ریشه شبکه متراکمی به نام شبکه هارتینگ برای مبادله متابولیت‌ها با گیاه میزبان ایجاد می‌کند. میکوریزا، پوسته یا غلاف کم و بیش ضخیمی بر روی سطح ریشه تشکیل داده که این عمل اغلب با تغییر رنگ و شکل این ریشه‌ها به صورت انشعابات کوتاه دو یا چند شاخه‌ای مکرر همراه است. تشخیص اکتو میکوریزا از طریق غلاف و تغییرات مورفولوژیکی ریشه به راحتی صورت می‌گیرد.

۲-۱۶-۴-۲- قارچ‌های اندومیکوریزا

این نوع میکوریزا به دلیل نفوذ قارچ به داخل سلول‌های پوست، تولید اندام‌های قارچی خاص به نام آرباسکول و وزیکول در درون ریشه گیاه اندومیکوریزا می‌گویند. در بعضی از انواع قارچ‌های اندومیکوریزا وزیکول تشکیل نمی‌شود.

وزیکول‌ها اکثرا در اواسط تا اواخر دوره رویشی ظاهر می‌گردند ولی آرباسکول محل اصلی انجام تبادلات متابولیکی بین قارچ و گیاه می‌باشد. آرباسکول‌ها معمولا در سلول‌های بخش درونی پوست

ریشه تشکیل می‌شوند. ریشه‌ی قارچ پس از نفوذ به درون سلول با تولید پی در پی انشعابات دو شاخه‌ای که به تدریج نازک‌تر و ظریف‌تر می‌شوند، در مجموع اندامی شبیه به درختچه کوچک به وجود می‌آورند که به‌دلیل سطح تماس بسیار گسترده با سلول میزبان، مبادله متابولیت‌ها را بین دو همزیست تسهیل می‌کند. وزیکول یا اندام کیسه مانند معمولا در نتیجه‌ی تورم انتهای ریشه قارچی و در درون یا در بین سلول‌های پوست ریشه تشکیل می‌شود و به تدریج با قطرات لیپیدی انباشته شده و نقش اندام ذخیره را پیدا می‌کند.

۲-۱۶-۴-۳- قارچ‌های اکتندومیکوریزا

در این نوع قارچ، غلاف کاهش یافته و یا اصلا وجود ندارد. این قارچ می‌تواند در شرایط مناسب و یا بر روی میزبان‌های گوناگون تشکیل حالت اکتندومیکوریزایی بدهد (جهان و نصیری محلاتی، ۱۳۹۱)

۲-۱۶-۵- مراحل تشکیل سیستم میکوریزایی

پس از آن‌که کلامیدوسپور در محیط مناسبی قرار گرفت جوانه زده و تشکیل میسیلیوم اولیه را می‌دهد اسپور قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان هنگامی جوانه می‌زنند که ریشه‌های گیاهان میزبان تشکیل شده باشند. ترشح مواد از سطح ریشه گیاه میزبان می‌تواند جوانه زنی اسپور را تحریک کند و سبب رشد جهت‌دار میسیلیوم به سمت ریشه گیاهان میزبان شود. این مواد هم‌چنین در سرعت هیف، منشعب شدن آن و تشکیل کلاف میسیلیومی تاثیر دارند. ترشحات ریشه‌ای بسته به نوع گیاهان ممکن است مواد فرار، مواد قابل حل در آب و یا مواد متصل به سطح ریشه باشند. هنگامی که لوله هیف کنار ریشه گیاه میزبان قرار می‌گیرد تحریک می‌شود و به سطح ریشه گیاه میزبان می‌چسبد و

در مرحله پایانی هیف در سطح ریشه گیاه میزبان نفوذ می‌کنند و وارد سلول‌های ریشه می‌شوند (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰).

۲-۱۶-۶- گسترش و کلونیزاسیون میکوریزا

کلونیزاسیون در سیستم ریشه‌ای گیاه می‌تواند با اسپور قارچ، میسیلیوم‌های خارجی و ریشه‌های از قبل کلونی شده صورت گیرد که به مخلوط این‌ها پروپاگول می‌گویند. اگر اسپورها به عنوان منبع کلونیزاسیون به کار روند رشد سریع تری را نسبت به حالتی که یک ریشه ساده رشد می‌کند ایجاد می‌کنند، زیرا اسپورها می‌توانند یک یا چندین ریشه رویشی تولید کنند. با حضور قارچ، گیاه با ترشحاتی از قبیل هورمون‌های رشد مثل سیتوکینین و ایندول استیک اسید باعث تحریک قارچ و جلب آن به طرف خود می‌شود. ریسه‌ی اصلی با قطری حدود ۲۰ تا ۳۰ میکرومتر می‌تواند بخش‌هایی را از انشعابات جانبی تولید نمایند که قطری حدود ۲ تا ۷ میکرومتر دارند و توسط دیواره‌ی عرضی از ریسه اصلی جدا می‌گردند. کلونیزاسیون ریشه عموما توسط این قسمت های بادبزنی شگل صورت می‌گیرد و در هر کلونی واحدی از انشعاب به داخل سلول های پوست وارد می شوند و می توانند انشعابات دو شاخه‌ای آرباسکول را تولید کنند. پس از یک دوره زمانی، آرباسکول‌ها تخریب می‌گردند و بخش‌های توده‌ای مانند را تشکیل می‌دهند (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۶).

۲-۱۶-۷- مراحل گسترش کلونیزاسیون قارچ‌های VAM

۲-۱۶-۷-۱- پیش کلونیزاسیون

جوانه زدن اسپورها و رشد اولیه‌ی ریسه در خاک تحت تاثیر شرایط فیزیکی خاک (رطوبت، حرارت، دی اکسید کربن) و شرایط شیمیایی خاک (pH، غلظت عناصر غذایی و ...) قرار دارد. در طی گسترش شبکه‌ی ریسه‌ای هیچ تقسیم سلولی انجام نگرفته و هسته‌ها در ساختمان‌های تازه‌ی تشکیل شده پخش می‌شوند (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۶)

۲-۱۶-۷-۲- کلونیزاسیون ثانویه

به طور طبیعی ریسه به حد فاصل سلول‌های اپیدرمی نفوذ می‌کند و یک کلاف ریسه‌ای را در لایه-های اول سلولی تشکیل می‌دهند (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۶).

۲-۱۶-۷-۳- تشکیل آرباسکول- وزیکول

بعد از نفوذ شبکه ریسه‌ای به درون ریشه، رشد درونی سلولی و بین سلولی ریشه آغاز می‌گردد. آرباسکول در درون سلول‌های پوست ریشه تشکیل می‌شود. این فرآیند معمولا ۲ تا ۵ روز بعد از نفوذ در شبکه ریسه‌ای آغاز می‌شود. وزیکول همزمان با تشکیل آرباسکول یا کمی بعد از آن تشکیل می-گردد که در واقع برآمدگی انتهای ریسه‌ها هستند که حاوی چربی‌اند. به دلیل طولانی بودن زمان تهیه مایه تلقیح که به یک دوره رشد رویشی گیاه میزبان مناسب احتیاج دارد و نیز نیاز به کشت‌های گلخانه‌ای که خطر کلونیزاسیون قارچ‌های بیماری زا را به همراه دارند، تولید، نگه‌داری، ذخیره سازی و عرضه تجاری مایه تلقیح مشکل است (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۶).

فصل سوم

مواد و روش

۳-۱- زمان و موقعیت محل اجرای آزمایش

این پژوهش در بهار سال ۱۳۹۳ در منطقه تورغوز آباد شهر ری (واوان) اجرا گردید. اراضی مزبور در کیلومتر ۱۵ اتوبان تهران- قم واقع شده و از نظر خصوصیات کلی، نماینده خاک‌های منطقه شهر ری می‌باشد. اراضی شهرستان ری از آبرفت‌های داخلی جنوب ارتفاعات البرز و آبرفت‌های اطراف کوه آراد (بین کهریزک و اسلام‌شهر) تشکیل یافته است. در واقع شهر ری جلگه‌ای است که از شمال غرب به جنوب شرق امتداد یافته است. شهرستان ری در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۲ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۵ دقیقه قرار گرفته است و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۰۶۰ متر می‌باشد.

۳-۲- موقعیت جغرافیایی در منطقه شهر ری

شهر ری محدوده‌ای است با مساحت ۲۲۹۳ کیلومتر مربع، از شمال به شهرستان تهران، از جنوب به شهرستان قم، از شرق به شهرستان ورامین و شهرستان پاکدشت، از غرب به شهرستان‌های اسلامشهر، رباط کریم و زندیه محدود می‌شود.

۳-۳- شرایط آب و هوایی منطقه

آب و هوای شهر ری گرم و خشک‌تر از شهر تهران بوده و حداکثر مطلق دما ۴۱/۸ درجه سانتی-گراد، حداقل مطلق دما ۳/۴- درجه سانتی‌گراد، میانگین حداقل دما ۱۳/۷ درجه سانتی‌گراد و میانگین حداکثر دما ۳۲/۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. فصل گرما از خرداد تا مهر ماه و مطلوب‌ترین دما در فروردین و اردیبهشت ماه است.

متوسط بارندگی در شهرستان ری ۱۸۲ تا ۲۰۷ میلی‌متر در سال است. بیش‌ترین بارندگی در ماه‌های فروردین، آذر و دی و کم‌ترین مقدار بارندگی در ماه‌های خرداد، تیر، مرداد، شهریور و مهر ماه می‌باشد. میانگین رطوبت نسبی هوا ۴۱/۲ درصد است. سطح ایستابی سفره زیر زمینی منطقه در حدود ۱۵ متر نسبت به سطح زمین می‌باشد که در برخی مناطق تا حدود ۵ متری سطح زمین برآورد شده است.

۳-۴- مشخصات خاک محل آزمایش

جهت تعیین خصوصیات خاک (بافت خاک و خصوصیات شیمیایی خاک) قبل از اجرای آزمایش اقدام به نمونه‌برداری از خاک مزرعه به صورت زیگزاگ گردید. برای این کار از عمق ۳۰-۰ سانتی-متری خاک مزرعه در چند نقطه از زمین مورد نظر نمونه‌برداری به‌عمل آمد سپس نمونه‌های جمع-آوری شده را با هم مخلوط کرده و یک نمونه جهت تعیین بافت خاک و میزان ترکیبات شیمیایی موجود در آن را به آزمایشگاه ارسال گردید. جدول ۳-۱ مشخصات خاک مزرعه را نشان می‌دهد.

محدوده نمونه	pH	EC dS.m	N ppm	P ppm	K ppm	Fe ppm	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	Si ppm	Sand %	Silt %	Clay %	بافت
۰-۳۰	۷/۸	۳/۴۵	۰/۱	۱۴	۴۴۷/۸	۳/۲۸	۱/۴۶	۱/۷۶	۴/۶۸	۱۱۲۰	۳۸	۴۲	۲۲	لومی-رسی
۳۰-۶۰	۸/۲۹	۱/۸۶	۰/۰۴	۴	۲۱۵	۲/۰۲	۰/۲۴	۱/۳۴	۳/۵۸	-	۲۴	۵۰	۲۶	لومی-رسی

جدول ۳-۱: مشخصات خاک مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری

۳-۵- مشخصات طرح آزمایشی و تیمارهای آزمایش

آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. هر تکرار شامل ۱۲ کرت بود. هر کرت شامل ۴ ردیف ۴ متری بود که به فواصل ۵۰ سانتی‌متر از یکدیگر تشکیل گردید و فاصله بذرها روی ردیف‌ها ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاکتور اول شامل قارچ میکوریزا در سه سطح (شامل مصرف دو گونه *Glomus mosseae*، *Glomus intraradices* و عدم مصرف) و هم‌چنین باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس هر کدام در دو سطح شامل مصرف و عدم مصرف بود.

۳-۶- عملیات اجرایی

۳-۶-۱- آماده سازی زمین

عملیات تهیه زمین در اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۳ صورت گرفت. مساحت زمین حدود ۹۰۰ متر بود. به جهت آماده سازی زمین در ابتدای فصل بهار یک شخم عمیق زده شد. سپس به جهت خرد شدن کلوخه‌ها و یکنواخت شدن خاک مزرعه، زمین مذکور دیسک زده شد و برای تسطیح زمین از ماله استفاده شد. در انتها بوسیله فاروئر پشته‌هایی به عرض ۵۰ سانتی‌متر ایجاد شد. ابعاد کرت‌ها بعد از اندازه‌گیری تعیین شد. برای جلوگیری از اختلاط آب آبیاری کرت‌ها با یکدیگر، بین هر دو کرت یک خط نکاشت با ارتفاع بیش‌تر در نظر گرفته شد و محل تیمارها به شکل تصادفی انتخاب شدند. در انتهای هر تکرار یک زه‌کش برای آب خروجی از کرت‌ها تعبیه شد.

۳-۶-۲- کاشت

کاشت در تاریخ ۱۳۹۳/۲/۲۷ انجام شد. عملیات کاشت با دست انجام شد. به این صورت که بذرها روی پشته با فاصله‌ی ۱۰ سانتی‌متر از یکدیگر و با عمق کاشت ۴-۳ سانتی‌متر از یکدیگر و به صورت خطی کاشته شد. قبل از کاشت نقشه طرح یر روی کاغذ اجرا شد. کشت و اختصاص تیمار قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و باکتری تیوباسیلوس نیز طبق نقشه طرح اعمال شد.

۳-۶-۲-۱- مصرف باکتری ریزوبیوم

مایه تلقیح باکتری، *mesorizobium* بود که از شرکت زیستی مهرآسیا تهران تهیه گردید. برای باکتری ابتدا مقدار بذر مشخصی را با توجه به سطح کاشت با آب شکر آغشته گردید که این محلول حاوی ۲ تا ۱۰ درصد شکر بود سپس با مایه تلقیح مخلوط گردید. سپس بذرها هنگامی که هوا آفتابی نبود سریعا کشت شدند. مایه‌های تلقیح حاوی باکتری‌های زنده‌اند و لذا باید از خشکی، درجات حرارتی بالا و نور مستقیم خورشید تا زمان استفاده محافظت شوند.

۳-۶-۲-۲- مصرف باکتری تیوباسیلوس

مایه تلقیح باکتری، *Thiobacillus* بود که از شرکت زیستی مهرآسیا تهران تهیه گردید. برای باکتری ابتدا مقدار بذر مشخصی را با توجه به سطح کاشت با آب شکر آغشته گردید که این محلول حاوی ۲ تا ۱۰ درصد شکر بود سپس با مایه تلقیح مخلوط گردید. سپس بذرها هنگامی که هوا آفتابی نبود سریعا کشت شدند.

۳-۶-۲-۳- مصرف قارچ میکوریزا

مایه تلقیح قارچ به نام *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* بود که از شرکت زیست فناور توران شاهرود تهیه گردید. مایه تلقیح حاوی خاک، اسپور و بقایای ریشه‌ای بود. استفاده از مایه تلقیح به این صورت انجام شد که در خط کاشت حفره‌هایی را ایجاد شد سپس مقداری مایه تلقیح (۸ گرم) در آن قرار داده شد سپس لایه نازکی از خاک روی آن قرار داده شد و سپس بذر و سپس خاک قرار داده شد.

۳-۶-۲-۴- آماده سازی بذر

رقم بذر مورد استفاده لوبیا چشم بلبلی از موسسه خدمات کشاورزی کشتزار شاهرود تهیه شد. رقمی متوسط رس با جوانه زنی ۹۷ درصد بود.

۳-۶-۳- داشت

پس از کاشت بذور اولین آبیاری انجام شد به طوری که پشته‌ها کاملا خیس شدند و آبیاری‌های بعدی با توجه به نیاز گیاه هر ۷-۵ روز یک‌بار انجام شد. اندکی پس از جوانه‌زنی و سبز شدن اندک گیاه‌چه اقدام به واکاری شد. برای رسیدن به تراکم مناسب، بعد از استقرار گیاه‌چه‌ها، بوته‌های سالم و قوی نگه داشته شده و بوته‌های ضعیف تنک شدند. مبارزه با علف‌های هرز روی خط کاشت و بین ردیف‌ها و در جوی اصلی و زه‌کش به شکل دستی انجام شد.

۳-۶-۴ برداشت

۳-۶-۴-۱- نمونه برداری در طی فصل رشد

با توجه به تاریخ کاشت که ۱۳۹۳/۲/۲۷ بود، نمونه‌برداری‌ها انجام شد. در هر نمونه‌برداری از هر کرت آزمایشی، به طور تصادفی ۳ بوته با احتساب نیم متر حاشیه از ابتدا و انتهای کرت و یک ردیف کاشت از حاشیه‌ها، به طور تصادفی انتخاب شدند و در پاکت‌های شماره گذاری شده قرار گرفتند و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه بوته‌ها به اجزای آن‌ها تفکیک و سپس با ترازو وزن شدند. سپس بعد از بسته بندی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و تا رسیدن به وزن ثابت، غلاف‌ها و اندام گیاهی وزن و ثبت شدند.

۳-۶-۴-۲ نمونه برداری عملکرد

برداشت نهایی در آخر فصل رشد و زمانی که ۷۰ درصد بوته‌ها و غلاف‌ها خشک و قهوه‌ای شده بودند انجام گرفت. قبل از برداشت برای اندازه‌گیری عملکرد نهایی و اجزای عملکرد در هر کرت، در آخر فصل رشد دو ردیف کناری و نیم متر از ابتدا و انتهای کرت دوم و سوم به عنوان اثر حاشیه‌ای حذف شد و از سطوح باقی‌مانده یک متر مربع انتخاب و عملکرد نهایی محاسبه شد.

۳-۷- ارزیابی صفات

در ابتدای نمونه برداری شاخص کلروفیل، کلروفیلa و b، کاروتنوئید، محتوای آب نسبی برگ، اندازه‌گیری سطح برگ، تعداد برگ، عرض و طول برگ انجام شد. در آخرین نمونه برداری انجام شده برخی صفات مانند تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، عملکرد دانه، ارتفاع بوته، طول غلاف، قطرساقه، قطر غلاف، وزن کاه، تعداد غلاف سبز و خشک، تعداد و وزن غلاف سبز، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. هم‌چنین درصد پروتئین دانه با روش کجلدال، درصد فسفر دانه با روش رنگ سنجی و درصد کلونیزاسیون ریشه نیز به روش فیلیپس و هایمن اندازه‌گیری شد.

۳-۷-۱- تعیین میزان کلونیزاسیون ریشه

برای تعیین درصد همزیستی میکوریزایی ریشه‌ها، قسمتی از ریشه تازه گیاه به صورت تصادفی نمونه‌برداری (حدود ۰/۵ گرم) شد. جهت رنگ آمیزی ریشه‌ها در محیط آزمایشگاه از روش تغییر یافته فیلیپس و هایمن (۱۹۷۰) استفاده گردید. پس از شست‌وشوی کامل ریشه‌ها با آب برای رنگ-بری از محلول KOH ده درصد استفاده شد و به مدت ۵ روز در دمای اتاق نگه‌داری شدند. سپس ریشه‌ها شسته شدند و جهت خنثی کردن محیط قلیایی به مدت ۵ دقیقه در محلول HCl یک دهم مولار قرار داده شدند. در انتها ریشه‌ها را در محلول رنگ‌آمیزی (شامل نسبت‌هایی از اسید لاکتیک، گلیسیرین، تریپان بلو و آب مقطر) به مدت ۸ ساعت قرار داده شد. بعد از رنگ‌آمیزی، برای مشاهده و بررسی درصد آلودگی از روش اسلاید استفاده شد.

۳-۷-۲- تعیین نیتروژن دانه

مرحله اول: (هضم): درون لوله ی هضم ۱/۱ گرم کاتالیزور و ۰/۳ گرم پودر بذر و ۶ سی سی اسید سولفوریک ریختیم و سپس لوله ها را درون دستگاه هضم برای سه ساعت گذاشتیم و در ساعت اول با دمای ۱۷۰ درجه، در ساعت دوم با دمای ۲۷۰ درجه و برای ساعت سوم با دمای ۳۷۰ درجه ی سانتی گراد تا در نهایت به رنگ سبز زیتونی در بیاید.

مرحله دوم: (تقطیر): بعد از این که سه ساعت هضم تمام شد محتوای لوله ی هضم را در دستگاه کجلدال گذاشتیم و دستگاه را تنظیم کردیم.

مرحله سوم: تیتراسیون: محلول را از دستگاه کجلدال خارج کرده و در ظرف مناسب ریختیم سپس چند قطره معرف (۱۶قطره، ۸ سی سی) به آن اضافه کردیم تا به رنگ سبز در بیاید. سپس ظرف را در زیر بورت قرار دادیم و آن را هم زدیم و هنگامی که به رنگ قرمز در آمد آن عدد را به عنوان نیتروژن یاد داشت کردیم (والینگ و همکاران، ۱۹۹۸).

۳-۷-۳- تعیین فسفر دانه

ابتدا یک گرم از پودر بذر را جدا کرده و درون کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد قرار دادیم (به مدت ۵ ساعت) سپس خاکستر را درون فالکون قرار و به آن ۱۰سی سی HCL، ۲ نرمال اضافه کردیم بعد نمونه ها را درون دستگاه بن ماری روی دمای ۷۵ درجه به مدت ۱۵ دقیقه قرار دادیم. سپس عصاره را توسط کاغذ صافی درون بالون ژوژه‌ی ۱۰۰ سی سی ریختیم و به حجم ۱۰۰ سی‌سی رساندیم سپس از آن ۵۰ سی سی درون فالکون قرار دادیم. در مرحله بعد ۵ سی سی از عصاره و ۵ سی سی از محلول فسفر بذری که تهیه کردیم را درون استوانه مدرج ریختیم و به حجم ۲۵ سی سی رساندیم بعد از محلول حاصله ۳ تا ۵ سی سی درون لوله قرار دادیم و با اسپکت در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت کردیم (جونز و همکاران، ۱۹۹۱).

۳-۷-۴- تعیین محتوی آب نسبی برگ

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ قبل از آبیاری در مرحله گل‌دهی نمونه برداری‌ها انجام گرفت و سپس نمونه‌ها را در پاکت قرار داده و پس از انتقال به آزمایشگاه توسط ترازوی دقیق وزن شدند سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر قرار داده شدند سپس وزن نمونه‌های برگی در حالت تورژسانس تعیین شد و در نهایت به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و وزن آن‌ها تعیین شد و با استفاده از فرمول زیر محتوای آب نسبی برگ محاسبه شد (روش ریچی و همکاران، ۱۹۹۰).

$$\mathrm{RWC\%} = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن برگ در حالت اشباع}} * 100$$

۳-۷-۵- تعیین کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها

مقدار ۰/۵ گرم از برگ تر را درون هاون ریخته و به خوبی له کردیم. سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به نمونه اضافه و با استون ساییدیم سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه

به مدت ۱۰ دقیقه قرار دادیم، عصاره جدا شده‌ی فوقانی حاصل از سانتریفیوژ را به بالن‌های شیشه‌ای منتقل کردیم. مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتربرای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب را قرائت کردیم (آرنون، ۱۹۶۷).

$$\text{cha} = \frac{(19.3*A663-0.86*A645)V}{100w}$$

$$\text{chb} = \frac{(19.3*A645-3.6*A663)V}{100w}$$

$$\text{car} = 100(A470) - 3.27(mg\ cha) - \frac{104(mg\ chb)}{227}$$

۳-۸- تجزیه آماری داده

در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای MSTATC استفاده شد. برای مقایسه میانگین از آزمون LSD در سطح احتمال مورد نظر استفاده گردید و نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL ترسیم شدند.

فصل چهارم

نتایج و بحث

۴-۱- ارتفاع ساقه اصلی

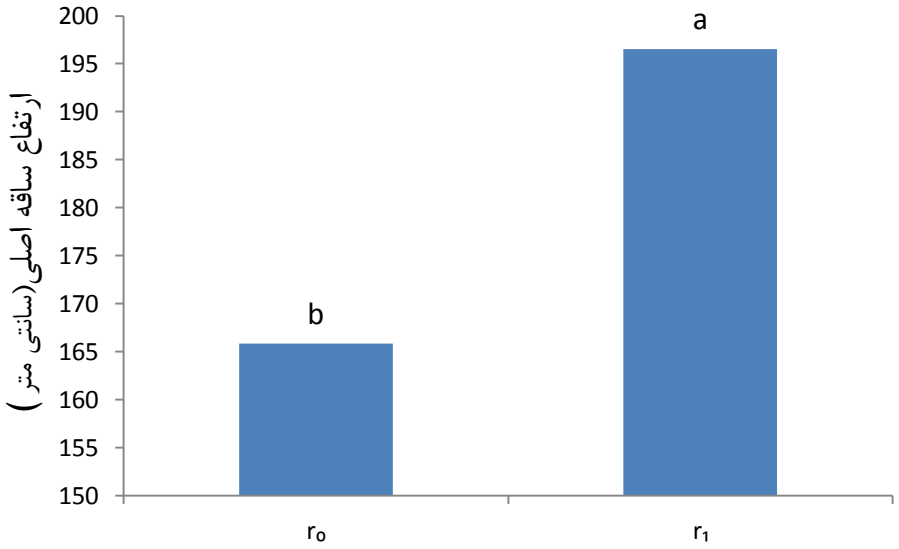
همان طور که در جدول پیوست ۴-۱ مشاهده می‌شود اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس در سطح یک درصد تاثیر معنی‌داری بر ارتفاع ساقه اصلی لوبیا چشم بلبلی داشتند. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر ارتفاع ساقه اصلی نداشتند.

با کاربرد باکتری ریزوبیوم، ارتفاع ساقه اصلی از ۱۶۵/۸۵ سانتی متر در تیمار شاهد به ۱۹۶/۵۲ سانتی متر در تیمار تلقیح با باکتری ریزوبیوم افزایش پیدا کرد (شکل ۴-۱). به طوری که افزایش ۱۸/۴۹ درصدی نسبت به شاهد (عدم تلقیح) نشان داد. ساهاران و نهرا (۲۰۱۱) اظهار کردند که تلقیح گیاه با باکتری ریزوبیوم موجب افزایش رشد، عملکرد، ارتفاع گیاه، و تعداد گره در ریشه نسبت به گیاهان بدون تلقیح در شرایط مزرعه می‌شود. بیسواس و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که افزایش طول ساقه برنج در اثر تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم در اثر ترشح هورمون‌های گیاهی تحریک کننده رشد توسط این باکتری‌ها می‌باشد. مقوانسی و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند که طول ساقه سویا با تلقیح با سویه‌های مختلف برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم تحت تاثیر قرار گرفت. ژانگ (۲۰۰۲) افزایش ارتفاع سویا را در تلقیح با باکتری برادی ریزوبیوم گزارش کرد.

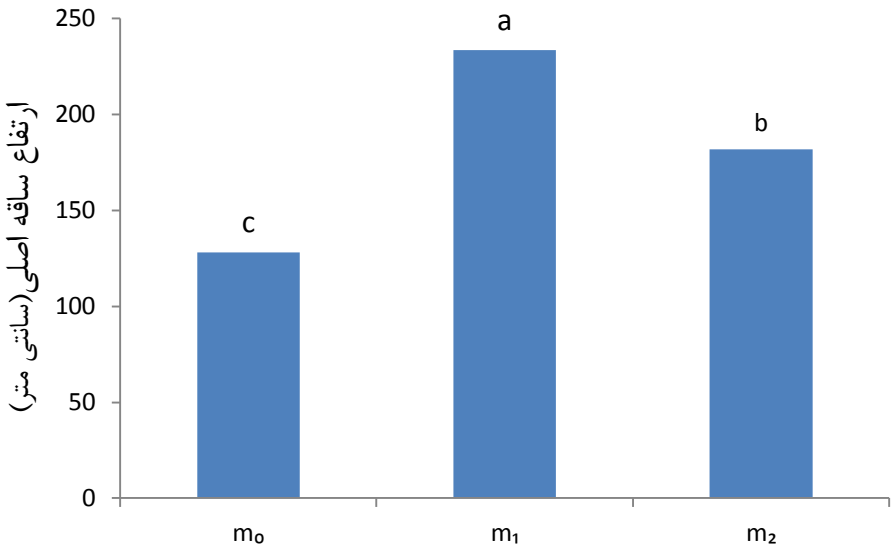
کاربرد گونه‌های *G.mosseae* و *G.intraradices* قارچ میکوریزا باعث شد که ارتفاع ساقه اصلی به طور معنی‌داری و به ترتیب به مقدار ۲۳۳/۶۲ و ۱۸۱/۷۴ سانتی‌متر در مقایسه با شاهد (۱۲۸/۲ سانتی متر) افزایش یابد. که به ترتیب باعث افزایش ۸۲/۲۳ و ۴۱/۷۶ درصدی ارتفاع بوته نسبت به شاهد شد (شکل ۴-۲). یوسفی‌راد و همکاران (۱۳۸۸) در گیاه جو و موباسر و همکاران (۲۰۱۲) در ذرت گزارش دادند که میکوریزا سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه شد. گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، موجب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیش‌تر و بهبود رشد نظیر ارتفاع گیاه و عملکرد ماده خشک گردیده است. مرادی و همکاران (۲۰۰۹) افزایش ارتفاع بوته نخود را در اثر تلقیح میکوریزا گزارش کردند.

ویدادا و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیان داشتند که گیاه سورگوم تلقیح شده با میکوریزا دارای ارتفاع بیش‌تری بود. همزیستی میکوریزایی از طریق تغییر در اختصاص منابع بین ریشه و قسمت‌های هوایی منجر به افزایش سطح برگ و افزایش ارتفاع می‌گردد. هم‌چنین گیاهان میکوریزایی انرژی کم‌تری برای تشکیل ریشه صرف می‌کنند، لذا این گیاهان ساقه بزرگ‌تری را تولید کرده و نسبت ریشه به ساقه پایین‌تری دارند. وان دوستاج و همکاران (۲۰۰۱) نیز نشان دادند که هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و سیتوکینین آزاد شده توسط قارچ های میکوریزا، ممکن است در افزایش رشد گیاه موثر باشد. در واقع قارچ میکوریزا از طریق افزایش جذب عناصر معدنی به ویژه نیتروژن و فسفر، باعث افزایش میزان فتوسنتز گیاه می‌شوند که در نهایت بهبود خصوصیات مورفولوژیک (ارتفاع) در گیاه را موجب می‌شود.

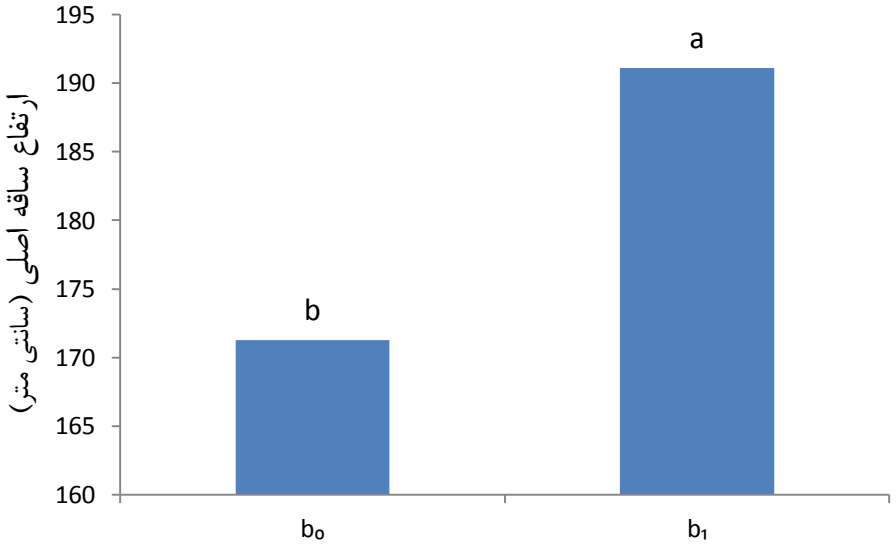
با کاربرد باکتری تیوباسیلوس ارتفاع ساقه اصلی از۱۷۱/۲۶ سانتی متر در تیمار شاهد به ۱۹۱/۱۲ سانتی متر در تیمار تلقیح با باکتری تیوباسیلوس افزایش پیدا کرد. به گونه‌ای که باعث افزایش ۱۱/۶۴ درصدی نسبت به شاهد (عدم تلقیح) شد (شکل ۴-۳). باکتری تیوباسیلوس از طریق اسیدی کردن محیط اطراف ریشه و افزایش دسترسی به عناصر غذایی منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود که به نوبه خود منجر به افزایش ارتفاع گیاه می‌شود.



شکل ۴-۱: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر ارتفاع ساقه اصلی (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل۴-۲: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر ارتفاع ساقه اصلی (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، *G.mosseae*=m_1، *G.intraradices*=m_2)



شکل ۴-۳: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر ارتفاع ساقه اصلی (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۲- تعداد غلاف در بوته

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که کاربرد باکتری ریزوبیوم و میکوریزا در سطح یک درصد و استفاده از باکتری تیوباسیلوس در سطح ۵ درصد تاثیر معنی‌داری بر تعداد غلاف در بوته

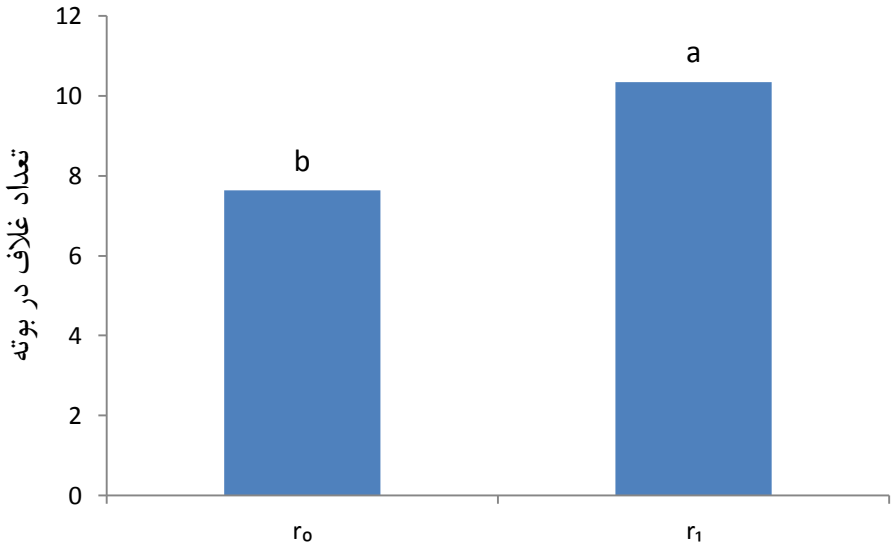
داشتند (جدول پیوست ۴-۱). اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر تعداد غلاف در بوته نداشتند.

در تیمار تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم با تولید ۱۰/۳۴ غلاف بیش‌ترین تعداد غلاف در بوته مشاهده شد که ۳۵/۵۱ درصد نسبت به شاهد (۷/۶۳ غلاف) افزایش پیدا کرد (شکل ۴-۴). ژانگ (۲۰۰۲) گزارش کرد که ریزوبیوم باعث افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته سویا می‌شود. آلبایراک و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه ای که بر روی ماشک انجام دادند، بیان کردند که تلقیح بذر با باکتری ها سبب افزایش تعداد نیام در بوته در مقایسه با عدم تلقیح با باکتری ریزوبیوم شد. احمد و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تعداد نیام در بوته های تلقیح شده نخود به طور معنی داری بالاتر از بوته های تلقیح نشده بود. تاگوی و همکاران (۲۰۰۸) نیز نتایج مشابهی بیان کردند. تلقیح از طریق دسترسی به نیتروژن بر رشد گیاه تاثیر می‌گذارد و نیتروژن با شرکت در ترکیبات پروتئینی و آمینی علاوه بر نقشی که در پایداری اسیدیته‌ی سلول دارد در جابه‌جایی عناصر در آوند چوبی نقش به سزایی دارد که همه‌ی این‌ها در نهایت منجر به افزایش تعداد غلاف در بوته می‌شود. با تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌های ریزوبیوم توانایی گیاه برای تولید شاخه‌های فرعی افزایش پیدا می‌کند و با افزایش تعداد در شاخه‌های فرعی، تعداد غلاف در بوته افزایش می‌یابد.

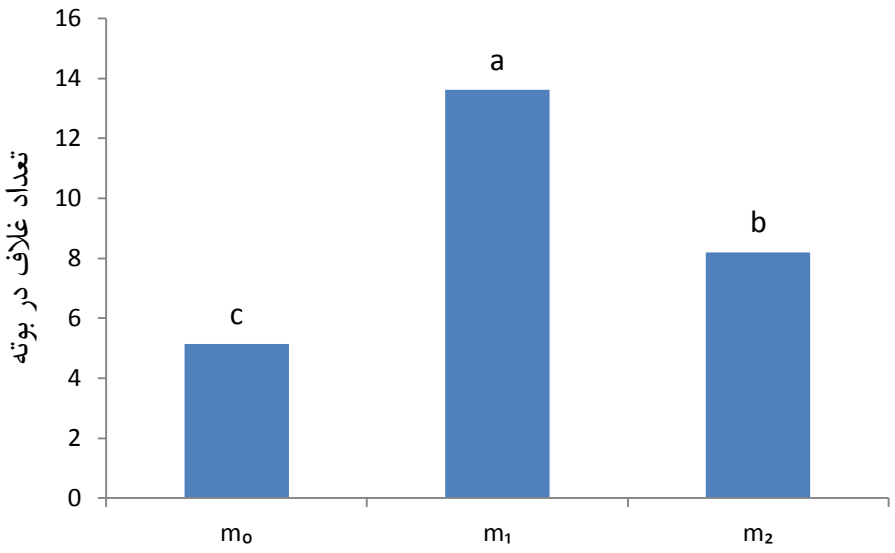
مطابق جدول پیوست ۴-۱ اثر قارچ میکوریزا نیز بر تعداد غلاف در بوته معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمار کاربرد قارچ میکوریزا گونه‌ی *G.mosseae* با تولید ۱۳/۶۲ غلاف بود که ۱۶۴/۹۸ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح قارچ) افزایش نشان داد و کم‌ترین تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمار شاهد به میزان ۵/۱۴ غلاف بود. هم-چنین گونه‌ی *G.intraradices* نیز با تعداد ۸/۲ غلاف، ۵۹/۵۳ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (شکل ۴-۵). نتایج فوق با نتایج صادقی پور و همکاران (۱۳۸۴) که در بررسی های خود اعلام کردند ارقام رشد نامحدود تعداد غلاف در بوته بیشتری دارند مطابقت کامل دارد. عده‌ای از محققین بر این عقیده‌اند که افزایش جذب عناصر غذایی در حضور میکروارگانیسم‌ها مانند قارچ میکوریزا ناشی

از گسترش سیستم ریشه‌ای می‌باشد و گیاه از طریق ریشه گسترده‌تر عناصر غذایی بیش‌تری را جذب می‌کند که این موضوع در نهایت موجب می‌شود تعداد غلاف در بوته افزایش یابد. بعضی از پژوهشگران افزایش کارایی مصرف نور با جذب بیش‌تر از خاک را عامل افزایش برخی از اجزای عملکرد از قبیل تعداد غلاف در بوته ذکر کرده‌اند. اختر و سیدیکویی (۲۰۰۸) مشاهده کردند تلقیح میکوریزا موجب افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در نخود نسبت به شاهد شد.

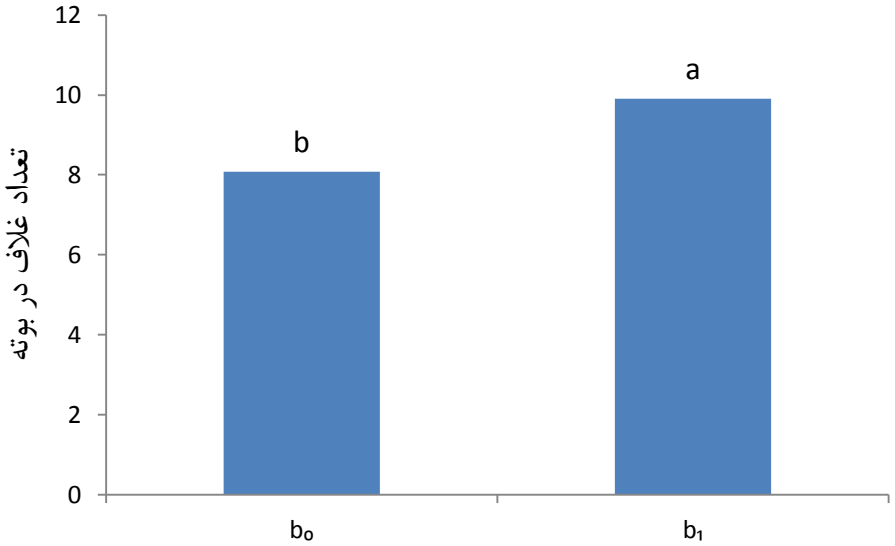
نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس با تولید ۹/۹ غلاف بیش‌ترین تعداد غلاف در بوته مشاهده شد که ۲۲/۵۲ درصد نسبت به شاهد (۸/۰۸) افزایش پیدا کرد (شکل ۴-۶). در این ارتباط نقش باکتری‌های تیوباسیلوس می‌تواند ناشی از افزایش حلالیت فسفات و تبدیل آن به شکل قابل جذب برای گیاه باشد (فروغی فر و پورکسمانی، ۲۰۰۲؛ محمدی آریا و همکاران، ۲۰۱۱). باکتری تیوباسیلوس علاوه بر فراهمی گوگرد برای گیاه pH خاک اطراف ریشه را کاهش می‌دهد و در نتیجه حلالیت عناصر غذایی را در خاک‌ها افزایش می‌دهد که موجب رشد بهتر گیاه می‌شود که رشد بهتر به نوبه‌ی خود موجب می‌شود گیاه با آمادگی بیش‌تری وارد فاز زایشی شود.



شکل ۴-۴: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر تعداد غلاف (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل۴-۵: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر تعداد غلاف در بوته (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، *G.mosseae*=m_1، *G.intraradices*=m_2)



شکل ۴-۶ : تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر تعداد غلاف در بوته (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۳- تعداد دانه در غلاف

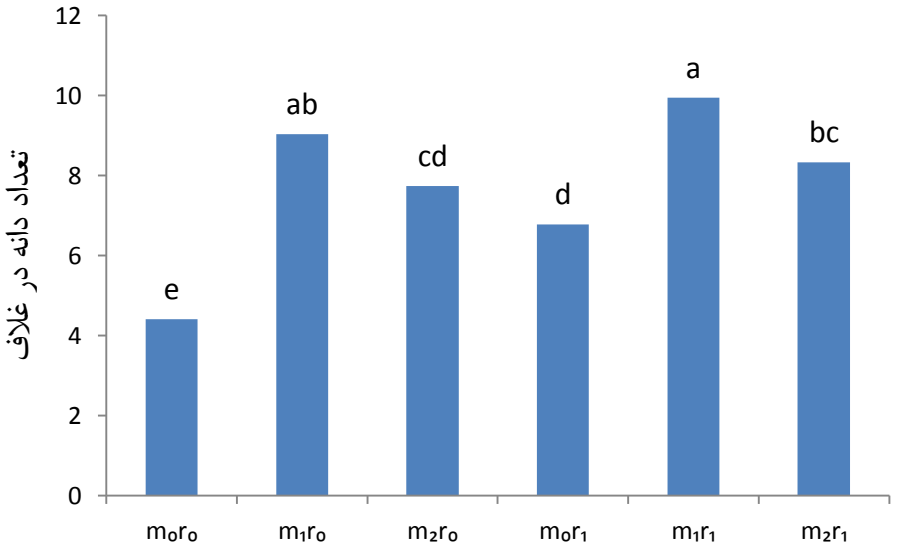
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که کاربرد باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر تعداد دانه در غلاف داشت (جدول پیوست ۴-۱). هم‌چنین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا نیز در سطح احتمال یک درصد بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار بود. سایر عوامل مورد بررسی مانند اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری تیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر تیوباسیلوس و اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس معنی‌دار نشد.

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین در جدول پیوست ۴-۴ بیانگر آن است که کاربرد باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری تعداد دانه در غلاف را افزایش داد بدین ترتیب تعداد دانه در غلاف در متر مربع از ۷/۰۶ دانه در تیمار شاهد به ۸/۳۵ دانه در تیمار تلقیح افزایش یافت که ۱۸/۲۷ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد (عدم تلقیح) بود. خندان بجندی و همکاران (۲۰۱۰) اثر تلقیح نخود با ریزوبیوم بر روی تعداد دانه در غلاف، شاخص برداشت و عملکرد دانه را معنی دار گزارش گردند. در بررسی اوپادهیای و همکاران (۱۹۹۹) تیمار تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری موجب افزایش تعداد غلاف، تعداد دانه در بوته و عملکرد دانه ماش نسبت به شاهد گردید.

بین سطوح کاربرد قارچ میکوریزا از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌داری (سطح ۱ درصد) مشاهده شد. به‌طوری که در تیمار گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا با تولید ۹/۴۹ دانه بیش‌ترین و در تیمار شاهد (عدم تلقیح) با ۵/۶ دانه کم‌ترین تعداد دانه در غلاف وجود داشت (بدین ترتیب ۶۹/۴۶ درصد افزایش نسبت به شاهد) هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* نیز با ۸/۰۳ دانه ۴۳/۳۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (جدول پیوست ۴-۴). تارک و تاواها (۲۰۰۲) نشان دادند که تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر مقادیر فسفر قرار می‌گیرند و متذکر شدند که کاربرد کودهای فسفره تعداد دانه را در باقلا به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. هم‌چنین جدول پیوست (۴-۴) نشان داد که تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس تعداد دانه در غلاف را افزایش داد به طوری که تعداد دانه در غلاف بوته-

های تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس به تعداد ۸/۰۸ دانه بیش‌ترین مقدار بود و ۱۰/۰۸ درصد نسبت به شاهد (۷/۳۴ دانه) افزایش داشت.

همان‌طور که درجدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود اثر متقابل قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار شد. نتایج نشان داد، بیش‌ترین تعداد دانه در غلاف با کاربرد ریزوبیوم همراه با مصرف گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۹/۹۵ دانه و کم‌ترین تعداد دانه در غلاف در تیمار شاهد به میزان ۴/۴۱ دانه بدست آمد (شکل ۴-۷). کاظمی پشت مساری و همکاران (۱۳۸۶) نشان دادند که کودهای زیستی باعث افزایش طول غلاف در گیاه باقلا می‌گردند که به نوبه‌ی خود موجب افزایش تعداد دانه در غلاف می‌شود. به نظر می‌رسد تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به همراه مصرف قارچ میکوریزا به دلیل اثر هم‌افزایی که بر هم دارند موجب افزایش تعداد غلاف در بوته می‌شوند و در نهایت منجر به افزایش تعداد دانه در غلاف می‌شوند.



شکل۴-۷: تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر تعداد دانه در غلاف (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)

۴-۴- وزن خشک غلاف در بوته

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس این صفت نشان داد که باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس در سطح یک درصد تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک غلاف داشت (جدول پیوست ۴-۱). اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا نیز در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک غلاف معنی‌دار بود. هم‌چنین اثر متقابل قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس و هم‌چنین باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس نیز در سطح احتمال ۵ درصد بر وزن خشک غلاف معنی‌دار بود. اثر متقابل باکتری ریزوبیوم بر تیوباسیلوس معنی‌دار نشد.

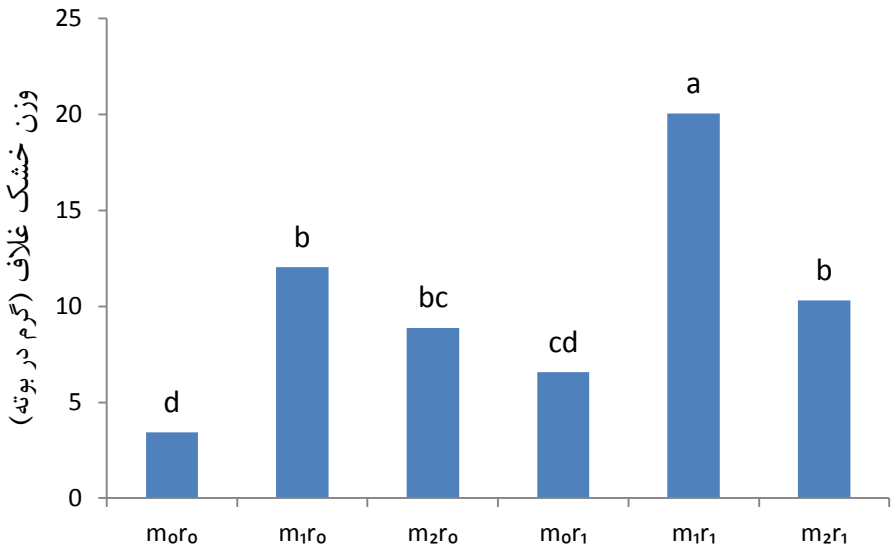
همان طور که در جدول پیوست ۴-۴ مشاهده می‌شود وزن خشک غلاف در بوته‌های تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم به میزان۱۲/۳۱ گرم بدست آمد که ۵۱/۶۰ درصد نسبت به شاهد (۸/۱۲ گرم) افزایش نشان داد.

بین سطوح کاربرد قارچ میکوریزا در افزایش وزن خشک غلاف اختلاف معنی‌دار وجود داشت. به طوری که کم‌ترین وزن خشک در تیمار شاهد (۵/۰۱) و بیش‌ترین مقدار با کاربرد گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۱۶/۰۴ دست آمد. کاربرد گونه‌ی *G.mosseae* و *G.intraradices* قارچ میکوریزا به ترتیب ۲۲۰/۱۵ و ۹۱/۸۱ درصد وزن خشک غلاف لوبیا چشم بلبلی را نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول پیوست ۴-۴). مشخص شده است که فسفر نقش مهمی را در انتقال انرژی در طول فتوسنتز ایفا می‌کند. بنابراین قارچ‌های میکوریز، محرکی جهت افزایش فعالیت فتوسنتزی می‌باشند (دیمیر، ۲۰۰۴).

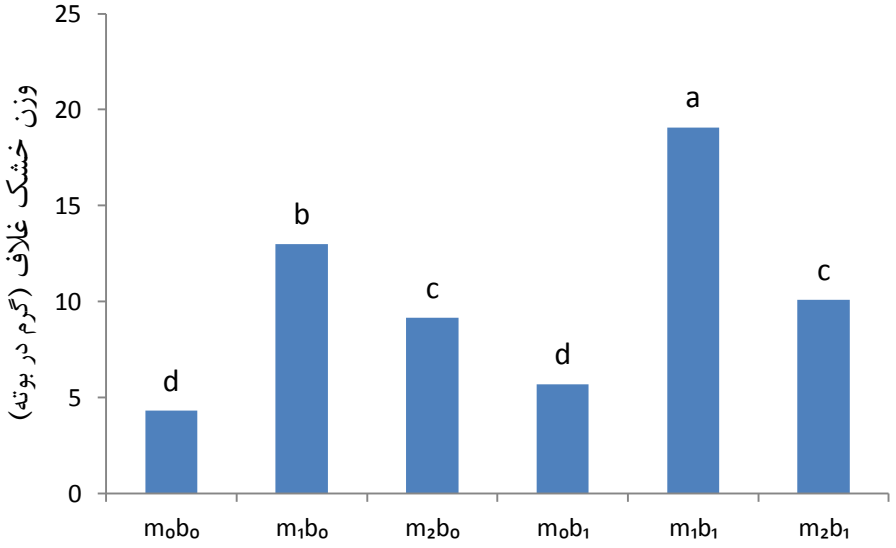
نتایج این آزمایش نشان داد که در تیمار تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس وزن خشک غلاف به میزان ۱۱/۶۲ گرم بدست آمد که افزایش ۳۱/۷۴ درصدی وزن خشک غلاف نسبت به شاهد (۸/۸۲ گرم) را سبب شد (جدول پیوست ۴-۴). با کاهش pH خاک میزان کلونیزاسیون و تراکم اسپور قارچ‌ها افزایش می‌یابد.

همان گونه که ذکر شد اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک غلاف داشت به طوری که نتایج حاصل از مقایسه میانگین (جدول پیوست ۴-۱) نشان داد بیش‌ترین وزن خشک در تیمار باکتری ریزوبیوم و گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۲۰/۰۴ گرم و کم‌ترین وزن خشک در تیمار شاهد به میزان ۳/۴۴ گرم به دست آمد. اثر هم افزایی دو گانه‌ی کلونیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزای آرباسکولار و ریزوبیوم بر رشد، جذب مواد غذایی و تثبیت نیتروژن در سویا، لوبیا چشم بلبلی و نخود گزارش شده است (زاویر و گرمیدا، ۲۰۰۳). اثر هم افزایی می‌تواند به دلیل نقش فسفر در تشکیل گره و تثبیت نیتروژن گیاهان تیره لگوم باشد که به این ترتیب قارچ میکوریزا با افزایش جذب فسفر گیاه، نقش مهمی را در تامین نیاز فسفری باکتری جهت رشد و تثبیت زیستی نیتروژن ایفا می‌کند (بات و همکاران، ۲۰۱۱). هم‌چنین مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک با کاربرد باکتری تیوباسیلوس و گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۱۹/۰۷ گرم و کم‌ترین وزن خشک در تیمار شاهد به میزان ۴/۳۱ گرم به دست آمد (شکل ۴-۹). در واقع با کاهش pH خاک توسط باکتری تیوباسیلوس، میزان کلونیزاسیون و تراکم اسپور قارچ‌ها افزایش می‌یابد که اثر این دو بر هم موجب افزایش وزن خشک غلاف شد.

هم‌چنین اثر سه جانبه باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس در سطح یک درصد بر وزن خشک غلاف معنی‌دار شدند (جدول ۴-۱).



شکل۴-۸: تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر وزن خشک غلاف (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل۴-۹: تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر وزن خشک غلاف (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (b.= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

شاهد	تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۶/۹۳۸efg
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۶/۲۲۲fgh
	عدم تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۴/۴۸۰gh
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۲/۴۰۰h
G.mosseae	تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۲۵/۲۳a
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱۴/۸۵b
	عدم تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱۲/۹۳bc
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱۱/۱۶bcd
G.intraradices	تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱۰/۷۳cde
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۹/۹۳۰cdef
	عدم تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۹/۴۴۸cdef
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۸/۳۵۰defg

جدول ۴-۱: مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر وزن خشک غلاف

۴-۵- شاخص سطح برگ

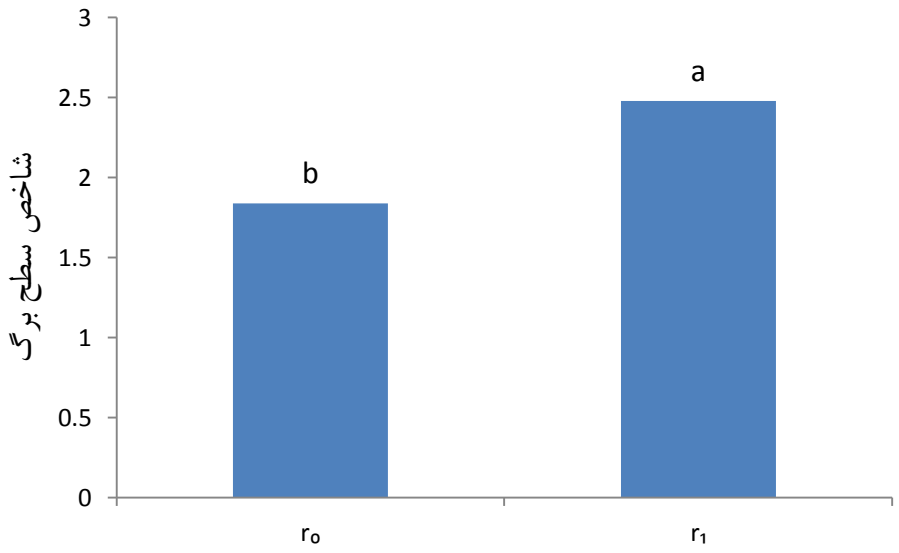
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس این صفت نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس در سطح یک درصد تاثیر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ داشت. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ نداشتند (جدول پیوست ۴-۱).

همان طور که در شکل ۴-۱۰ مشاهده می‌شود شاخص سطح برگ در بوته‌های تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم به میزان ۲/۴۸ بدست آمد که ۳۴/۷۸ درصد نسبت به شاهد (۱/۸۴) افزایش نشان داد. گزارش‌های زیادی مبنی بر افزایش نیتروژن گیاه در نتیجه استفاده از قارچ‌های میکوریزا وجود دارد و عاملی هم‌چون نیتروژن شاخص سطح برگ را در گیاه افزایش می‌دهد و موجب بالا رفتن میزان تولید ماده خشک در گیاه خواهد شد. باکتری ریزوبیوم به دلیل تثبیت نیتروژن میزان جذب فسفر را

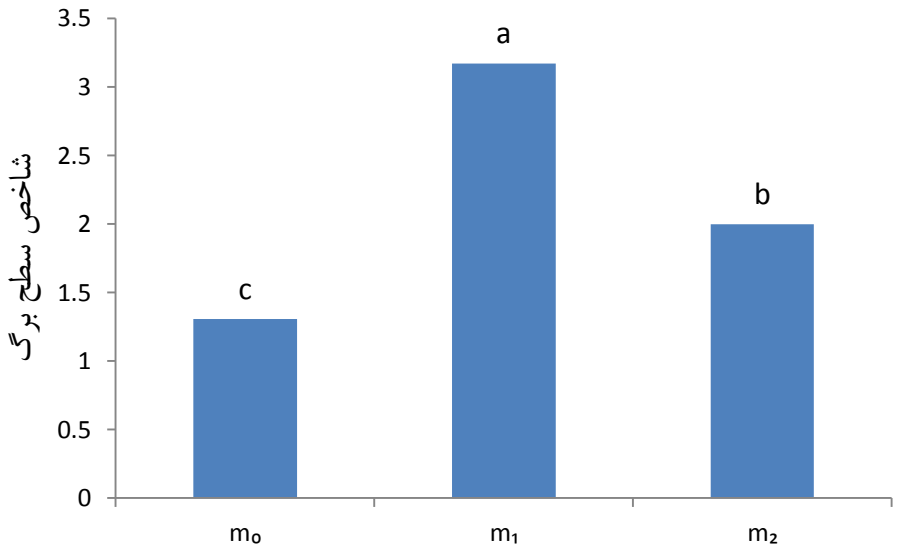
افزایش داده که به طور مستقیم در ساختار کلی گیاه تاثیر می‌گذارد و در نتیجه موجب بهبود رشد رویشی گیاه شده و موجب افزایش فتوسنتز شده، که افزایش سطح برگ نتیجه‌ی آن است.

کاربرد گونه‌ی *G.mosseae* و *G.intraradices* قارچ میکوریزا به ترتیب ۱۴۱/۹۸ و ۵۲/۶۷ درصد شاخص سطح برگ لوبیا چشم بلبلی را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۴-۱۱). کم‌ترین شاخص سطح برگ در تیمار شاهد (۱/۳۱) و بیش‌ترین مقدار با کاربرد گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۳/۱۷ بدست آمد. قارچ میکوریزا اولین کاری که انجام می‌دهد جذب فسفر است که به نوبه‌ی خود منجر به گسترش ریشه می‌شود که این امر موجب جذب بیش‌تر مواد غذایی می‌شود که با توجه به فتوسنتز بیش‌تر سطح برگ را نیز افزایش می‌دهد.

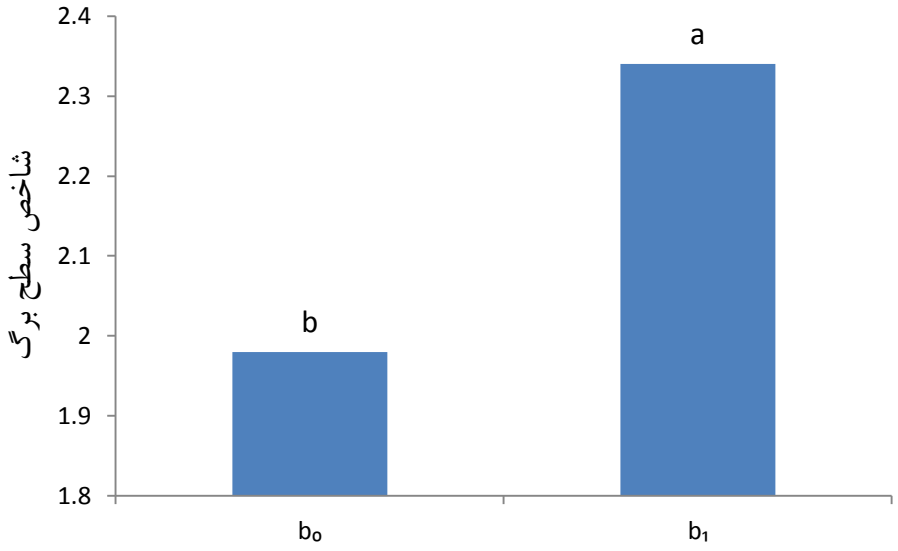
همان طور که در شکل ۴- ۱۲ مشاهده می‌شود تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس موجب افزایش شاخص سطح برگ به میزان ۲/۳۴ بود که ۱۸/۱۸ درصد نسبت به شاهد (۱/۹۸) افزایش یافت.



شکل ۴- ۱۰: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر شاخص سطح برگ (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل ۴- ۱۱: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر شاخص سطح برگ (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۱۲: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر شاخص سطح برگ (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۶- وزن صد دانه

همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴-۲) مشاهده می‌شود تاثیر باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر وزن صد دانه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر وزن صد دانه نداشتند.

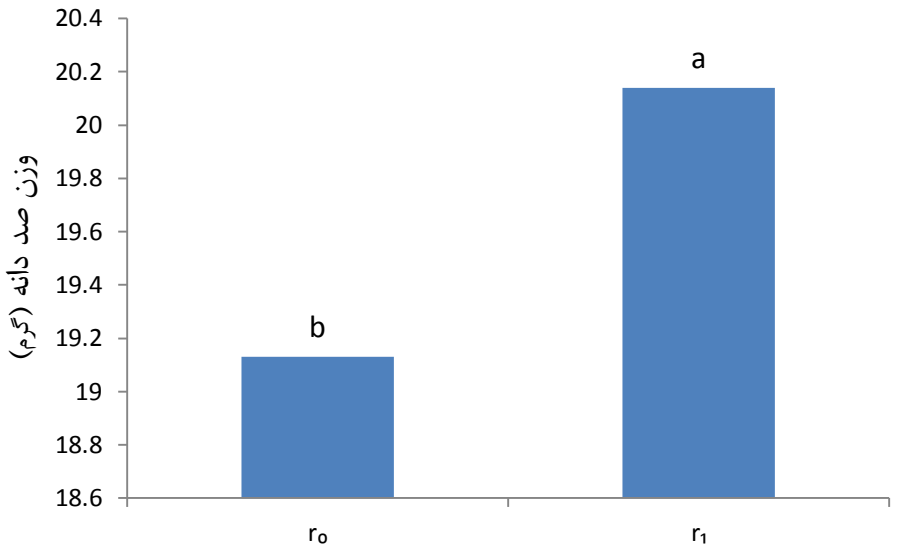
نتایج مقایسه میانگین (شکل ۴-۱۳) نشان داد که تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری وزن صد دانه را افزایش داد به طوری که وزن دانه‌های تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم به میزان ۲۰/۱۴ گرم بیش‌ترین مقدار بود و ۵/۲۷ درصد نسبت به شاهد (۱۹/۱۳ گرم) افزایش داد.

نتایج برخی محققین نشان داد که تلقیح باقلا با ریزوبیوم عملکرد و وزن صد دانه باقلا را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد (ال شیخ و ال زیدانی، ۱۹۹۷). محمدی و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر معنی دار اثر رقم و سویه باکتری بر روی عملکرد دانه، تعداد غلاف در بوته، وزن صد دانه و تعداد دانه در غلاف در لوبیا را مشاهده کردند. وجود نیتروژن کافی حاصل از تلقیح به عنوان آغازگر باعث تقویت رشد رویشی گیاه شده و در نتیجه گیاه با آمادگی بیش‌تر به مرحله زایشی وارد شده و عملکرد دانه افزایش می‌یابد.

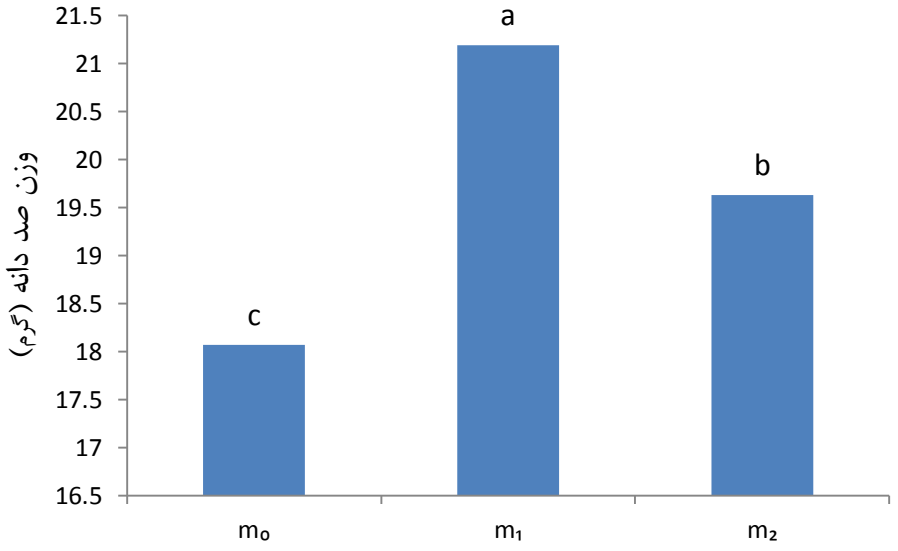
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین تاثیر مربوط به تیمار تلقیح گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۲۱/۱۹ گرم بود که ۱۷/۲۶ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد (۱۸/۰۷ گرم) بود. هم‌چنین وزن صد دانه‌ی گونه‌ی *G.intraradices* ۱۹/۶۳ گرم بود که ۸/۶۳ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود (شکل ۴-۱۴). در پژوهشی که روی ذرت انجام شد، نتایج نشان داد که تلقیح با قارچ میکوریزا موجب افزایش معنی‌دار وزن هزار دانه ذرت نسبت به تیمار شاهد شد (ثمربخش و همکاران، ۲۰۰۹). قربانیان و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند که قارچ های میکوریزی منجر به افزایش عملکرد و اجزای عملکرد ذرت می شود. بر اساس نتایج به دست آمده از بررسی این محققین کاربرد قارچ های میکوریزی منجر به افزایش عملکرد دانه، تعداد دانه در هر ردیف و وزن هزار دانه گردید. تلقیح توسط قارچ میکوریزا به دلیل گسترش سیستم ریشه‌ای موجب شده که عناصر غذایی به میزان کافی

جذب شوند و در نتیجه میزان فتوسنتز افزایش یابد و در مرحله پر شدن دانه‌ها، شیره پرورده کافی به دانه‌ها منتقل و سبب افزایش وزن صد دانه گردد.

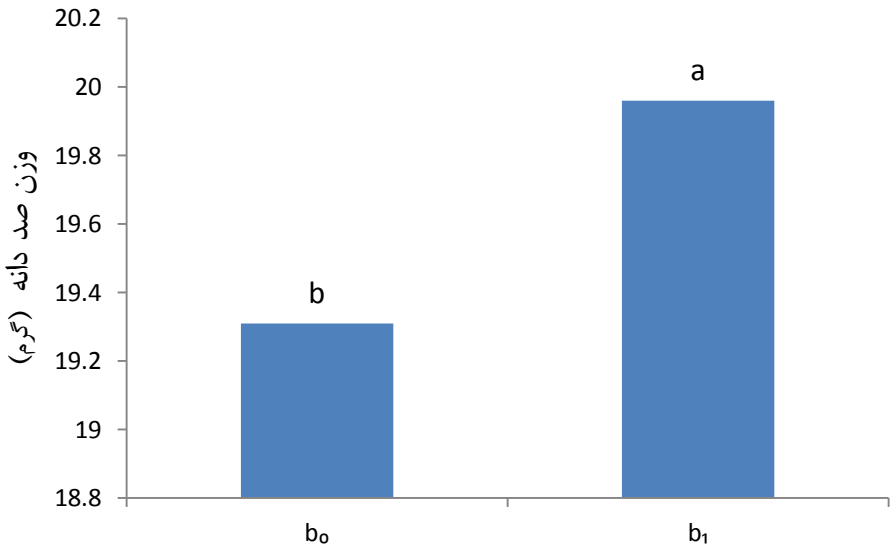
تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس به طور معنی‌داری وزن صد دانه را افزایش داد به گونه‌ای که وزن صد دانه بوته‌های تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس به میزان ۱۹/۹۶ گرم بیش‌ترین مقدار بود و ۳/۳۶ درصد نسبت به شاهد (۱۹/۳۱ گرم) افزایش داشت (شکل ۴-۱۵). استفاده از تیوباسیلوس و گوگرد با هم در خاک اثرات مثبت قابل توجهی در وزن هزار دانه و عملکرد سویا بوجود می‌آورد زیرا تیوباسیلوس موجب افزایش اکسیداسیون گوگرد و کاهش pH خاک می‌شود و بنابراین موجب افزایش جذب برخی از موادغذایی قابل استفاده می‌شود (شارما، ۲۰۰۳). نتایج محققان نشان می‌دهد که کمبود گوگرد می‌تواند عملکرد را از طریق تاثیر بر رشد گیاه در دوره پر شدن دانه، کاهش دهد. این تاثیر دیر هنگام از کمبود گوگرد می‌تواند نتیجه تحرک زیاد گوگرد در خاک و انتقال مجدد اندک آن در گیاه باشد، لذا فراهمی گوگرد در گیاه می‌تواند از طریق پر شدن و افزایش وزن دانه، عملکرد را نیز افزایش دهد (فلاویو و همکاران، ۲۰۰۷). علت این افزایش را می توان به افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی و مساعد شدن شرایط واکنش خاک (pH) برای باکتری های اکسیدکننده دانست (امانی و همکاران، ۱۳۸۶). نور قلی پور و همکاران(۱۳۸۵) و امانی و همکاران(۱۳۸۶) نیز طی آزمایش های جداگانه روی سویا نیز به همین نتایج دست یافتند.



شکل ۴- ۱۳: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر وزن صد دانه (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل ۴-۱۴: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر وزن صد دانه (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



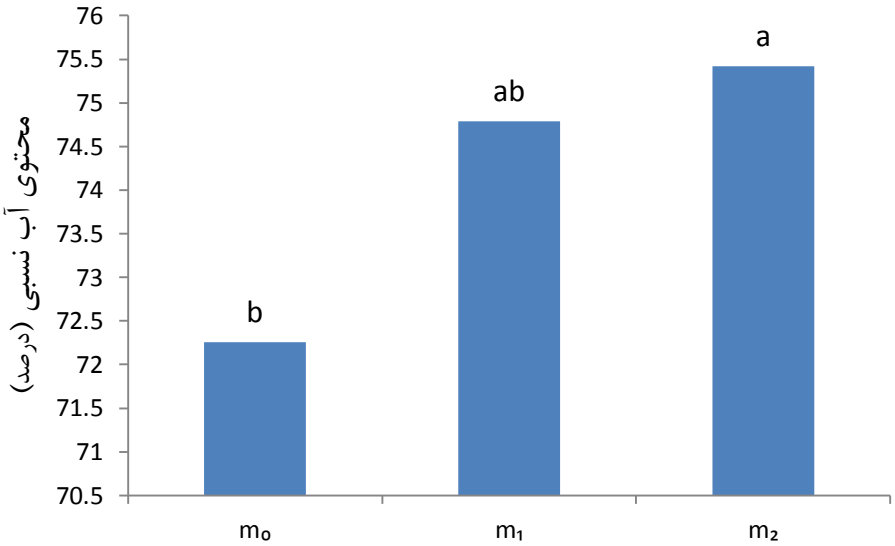
شکل ۴-۱۵: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر وزن صد دانه (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۷- محتوی آب نسبی برگ

همان طور که در جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود تلقیح قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر محتوی آب نسبی برگ لوبیا چشم بلبلی داشت (جدول پیوست ۴-۲). سایر عوامل مورد بررسی شامل اثر اصلی باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا بر باکتری تیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر تیوباسیلوس و اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس معنی‌دار نشد.

مطابق نتایج به دست آمده از این تحقیق بین سطوح تلقیح قارچ میکوریزا اختلاف معنی‌داری از لحاظ محتوی آب نسبی برگ مشاهده شد. بیش‌ترین درصد محتوی آب نسبی با کاربرد گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان۷۵/۴۲ درصد حاصل شد که از لحاظ آماری با گونه‌ی *G.mosseae* (۷۴/۷۹ درصد) در یک سطح است و ۳/۱۶ درصد از تیمار شاهد (عدم تلقیح) بیش‌تر است (شکل ۴-۱۶). قارچ‌های میکوریزا با افزایش محتوای آب نسبی می‌توانند موجب بهبود جذب فسفر از خاک شده و در نهایت نقش مؤثری در افزایش رشد گیاه داشته باشند (کریشنا، ۲۰۰۵). میکوریزا موجب افزایش سطح ریشه برای جذب مواد غذایی و آب می‌شود، بنابراین ناحیه جذب آب و

مواد غذایی را برای سیستم ریشه گیاه بهبود می‌بخشد (اف ان سی ای، ۲۰۰۶). قارچ میکوریزا موجب افزایش سطح جذب کنندگی ریشه ی بالغ از خاک می شود که به نوبه ی خود منجر به افزایش محتوی آب نسبی می‌شود. هیف‌های خارجی میکوریزا آربوسکولار از سطح ریشه به آن‌سوی خاک و ناحیه تخلیه فسفر توسعه پیدا کرده و بنابراین دسترسی ریشه به حجم بیش‌تری از خاک و ناحیه تخلیه شده از عناصر غذایی را در مقایسه با ریشه تنها مهیا می‌کنند (هیمن، ۱۹۸۶). قارچ میکوریزا موجب افزایش سطح جذب کنندگی ریشه ی بالغ از خاک می شود که به نوبه ی خود منجر به افزایش محتوی آب نسبی می شود.



شکل ۴-۱۶: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر محتوی آب نسبی (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)

۴-۸- عملکرد دانه در هکتار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس و اثر متقابل قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد و هم‌چنین اثر سه جانبه متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری

در سطح ۵ درصد بر عملکرد دانه در هکتار داشتند (جدول پیوست ۴-۲). سایر عوامل مورد بررسی شامل اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری تیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر تیوباسیلوس معنی‌دار نشد.

هدف نهایی از زراعت لوبیا چشم بلبلی، عملکرد دانه است. عملکرد هر جامعه گیاهی، نحوه فعالیت آن را در طی فصل رشد و نمو و نحوه‌ی استفاده از تشعشع، مواد غذایی، آب و سایر منابع محیطی نشان می‌دهد. تسهیم و تخصیص مواد فتوسنتزی در گیاهان مختلف، تابع خصوصیات ژنتیکی گیاه و نیز شرایط محیطی است. ظرفیت مخزن، روابط بین مبدا و مخزن، نسبت بین هورمون‌های مختلف، شرایط محیطی به خصوص دما و رطوبت از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار بر شکل گیری عملکرد گیاهان زراعی هستند. عملکرد در گیاهان زراعی به بخش اقتصادی و ارزشمند گیاه اطلاق می‌شود که تولید کننده به منظور برداشت این اندام، گیاه را پرورش می‌دهد (رحیمیان و بنایان اول، ۱۳۷۵).

نتایج مقایسه میانگین به‌دست آمده از عملکرد دانه در هکتار نشان داد که باکتری ریزوبیوم تاثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه در هکتار داشت. به طوری که بیش‌ترین عملکرد دانه در هکتار در بوته‌های تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم به میزان ۱/۵۱ تن در هکتار به دست آمد که ۴۲/۴۵ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش داشت و کم‌ترین عملکرد دانه در هکتار در بوته‌های شاهد (عدم تلقیح) به میزان ۱/۰۶ تن در هکتار بود (جدول پیوست ۴-۴).

نتایج آزمایشات قاسمی پیربلوطی و همکاران (۱۳۸۳) نشان داد که تلقیح بذرهای ارقام لوبیا با سویه-های مختلف باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم اثرات مثبت معنی‌داری بر صفاتی از جمله عملکرد دانه، وزن خشک غلاف در بوته، تعداد غلاف در بوته و میزان درصد تثبیت نیتروژن داشت. با توجه به نتایج بات و همکاران (۲۰۱۱) در تلقیح ماش سبز با باکتری ریزوبیوم، افزایش معنی‌داری در عملکرد دانه و جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم نسبت به شاهد (عدم تلقیح) مشاهده شد. افزایش عملکرد دانه که نتیجه‌ی تلقیح با باکتری ریزوبیوم است می‌تواند به دلیل تولید هورمون‌های رشد و افزایش مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا توسط این باکتری‌ها باشد که به نوبه‌ی خود موجب افزایش

رشد و عملکرد گیاه می‌شود. آلبایراک و همکاران (۲۰۰۶) نیز اظهار داشتند که تلقیح با باکتری رایزوبیوم منجر به افزایش ۷/۶ درصدی عملکرد دانه شد. نمدئو و گوپتا، (۱۹۹۲) هم نشان دادند که تلقیح کردن نخود با مزوریزوبیوم مناسب در هند ۲۶ درصد افزایش محصول به همراه داشته است. رادرش و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که تلقیح با باکتری رایزوبیوم در مقایسه با عدم تلقیح سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد نخود شد. این محققان اظهار داشتند که افزایش در میزان رشد و عملکرد دانه تحت تاثیر تلقیح با باکتری رایزوبیوم می تواند به دلیل افزایش تامین عناصر غذایی به ویژه نیتروژن طی دوره رشد باشد. به علاوه، شاید این باکتری بتواند بازده استفاده از نیتروژن را در گیاه افزایش دهد.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیش‌ترین عملکرد دانه در هکتار مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا با ۱/۸۷ تن در هکتار بود که ۱۲۸/۰۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت و کم‌ترین میزان عملکرد دانه در هکتار مربوط به تیمار شاهد با ۰/۸۲ تن در هکتار بود هم-چنین گونه‌ی دوم قارچ میکوریزا به میزان ۱/۱۸ تن در هکتار بود که ۴۳/۹۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (جدول پیوست ۴-۴).

رابطه همزیستی میکوریزایی با ریشه گیاه از طریق مکانیسم‌های تولید هورمون و افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر و نیتروژن به رشد بهتر گیاه کمک کرده و در نتیجه کارایی گیاهان تحت تیمار را در استفاده از منابع محیطی افزایش داده است که منجر به افزایش عملکرد دانه گردیده است. نتایج بدست آمده با یافته‌های توساینت و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. قارچ میکوریزا در شرایط عادی موجب افزایش جذب مواد مغذی می‌شود که به نوبه‌ی خود موجب افزایش عملکرد دانه می-گردد (بیسواس و همکاران، ۲۰۰۰؛ دوبلاره، ۱۹۹۹). کاتلین و همکاران(۲۰۰۶) اعلام کردند عملکرد زیستی (وزن خشک گیاه) بسیاری از گیاهان که با میکوریزا همزیستی دارند نسبت به گیاهانی که در محیط رشدشان میکوریزا وجود ندارد بالاتر است. به دلیل افزایش هدایت روزنه ای در گیاهان میکوریزایی رشد ریشه ها و جذب آب و مواد غذایی افزایش می یابد که منجر به افزایش عملکرد در

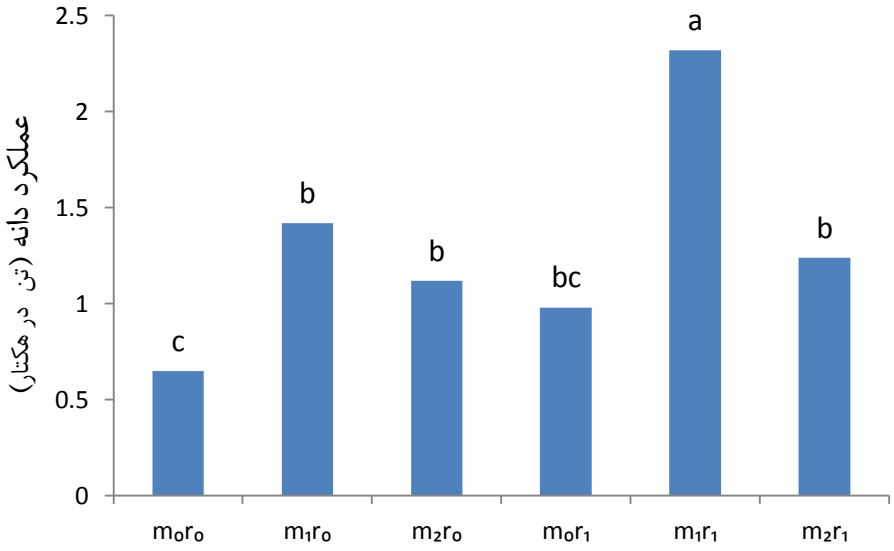
این گیاهان می شود. این نتایج توسط آیوگ و همکاران (۲۰۰۴) نیز بدست آمد. در مطالعه ایی دیگر که روی گیاه گندم (*Triticum aestivum*) انجام گرفت، مشاهده گردید که کاربرد قارچ میکوریزایی سبب بهبود ویژگی‌هایی نظیر ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت نسبت به تیمار کنترل گردید (اردکانی و همکاران، ۱۳۷۹). به نظر می‌رسد که همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه‌ی لوبیا چشم بلبلی از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، فتوسنتز را افزایش داده شده و این امر سبب تولید فرآورده‌ی بیش‌تر و بهبود رشد از جمله عملکرد دانه گردیده است. به-دلیل افزایش فراهمی عناصر غذایی و جذب متعادل نیتروژن، جذب و تجمع عناصر غذایی پر مصرف اولیه مانند فسفر و پتاسیم در اندام‌های هوایی و زمینی افزایش می‌یابد و در نتیجه موجب افزایش بیش‌تر عملکرد دانه شد.

همان طور که در جدول مقایسه میانگین ۴-۴ مشاهده می‌شود عملکرد دانه در هکتار در بوته‌های تلقیح یافته با باکتری تیوباسیلوس به میزان ۱/۴۱ تن در هکتار بدست آمد که ۲۱/۵۵ درصد نسبت به شاهد (۱/۱۶ تن در هکتار) افزایش نشان داد. با تلقیح خاک به‌وسیله باکتری‌های تیوباسیلوس میزان اکسایش گوگرد، کاهش pH و مقدار سولفات تولید شده در خاک تلقیح شده بیش‌تر از خاک بدون تلقیح می‌باشد. در نتیجه این اکسایش و کاهش pH خاک، دسترسی ریشه به عناصری چون فسفر و عناصر کم مصرف بیش‌تر شده و در نتیجه سبب بهبود تغذیه و افزایش عملکرد می‌شود (داوود و همکاران، ۱۹۸۵). با افزایش گوگرد، افزایش جذب و در نتیجه افزایش عملکرد مشاهده می‌شود که استفاده از مایه تلقیح تیوباسیلوس باعث افزایش بیش‌تر می‌گردد. در واقع گوگرد باعث بهبود کیفیت گیاه می‌شود و باکتری این فرآیند را سرعت می‌بخشد.

برهم‌کنش ریزوبیوم و میکوریزا تاثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه در هکتار داشت (شکل ۴-۱۷). بیش-ترین عملکرد دانه با کاربرد باکتری ریزوبیوم همراه با گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۲/۳۲ تن در هکتار و کم‌ترین عملکرد دانه در هکتار در تیمار شاهد به میزان ۰/۶۵ تن در هکتار به-دست آمد.

باکتری ریزوبیوم (چبوتار و همکاران، ۲۰۰۱) و قارچ میکوریزا (باشان و همکاران، ۲۰۰۴) به‌دلیل جذب مواد مغذی به‌ویژه نیتروژن و فسفر عملکرد را افزایش می دهد. نوین و همکاران (۲۰۰۸) اعلام کردند تلقیح دوگانه مایکوریزا و ریزوبیوم باعث افزایش عملکرد دانه در باقلا می شود. افزایش فسفر در قسمت‌های مختلف گیاهی و عدم کمبود نیتروژن دو عامل مهم در افزایش عملکرد گیاه هستند و هنگامی که میکوریزا به عنوان تامین کننده‌ی فسفر و یک عامل مهم در گسترش ریشه و در نتیجه جذب مواد غذایی و آب و ریزوبیوم به عنوان تامین کننده‌ی نیتروژن در کنار هم باشند عملکرد دانه افزایش پیدا کرده است.

هم‌چنین اثر سه جانبه متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس در سطح ۵ درصد بر عملکرد دانه معنی‌دار شدند (جدول ۴-۲). می توان گفت که کودهای زیستی با افزایش میزان فتوسنتز و افزایش جذب آب و عناصر غذایی موجب بهبود عملکرد می شوند.



شکل۴-۱۷: تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر عملکرد دانه در هکتار (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)

شاهد	تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۰۳۰cdef
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۰/۹۳۵def
	عدم تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۰/۷۵۵ef
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۰/۵۶۰f
G.mosseae	تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۲/۸۴a
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۸۰b
	عدم تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۴۵۵bc
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۳۸۵bcd
G.intraradices	تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۲۶۵cd
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۲۱۵cde
	عدم تلقیح باکتری ریزوبیوم	تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۱۵۰cde
		عدم تلقیح باکتری تیوباسیلوس	۱/۱۰۰cde

جدول ۴-۲: مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر عملکرد دانه

۴-۹- عملکرد بیولوژیک در هکتار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد و هم‌چنین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر عملکرد بیولوژیک داشتند. سایر عوامل مورد بررسی شامل اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری تیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر باکتری تیوباسیلوس و اثر سه گانه قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و باکتری تیوباسیلوس معنی‌دار نشد (جدول پیوست ۴-۲).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین به‌دست آمده از عملکرد بیولوژیک در هکتار نشان داد که باکتری ریزوبیوم تاثیر معنی‌داری بر عملکرد بیولوژیک در هکتار داشت. به طوری که بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در هکتار در بوته‌های تلقیح یافته با باکتری ریزوبیوم به میزان ۱/۶۴ تن در هکتار به دست آمد که ۲۰/۵۸ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش داشت و کم‌ترین عملکرد بیولوژیک در هکتار در بوته‌های شاهد (عدم تلقیح) به میزان ۱/۳۶ تن در هکتار بود (جدول پیوست ۴-۴).

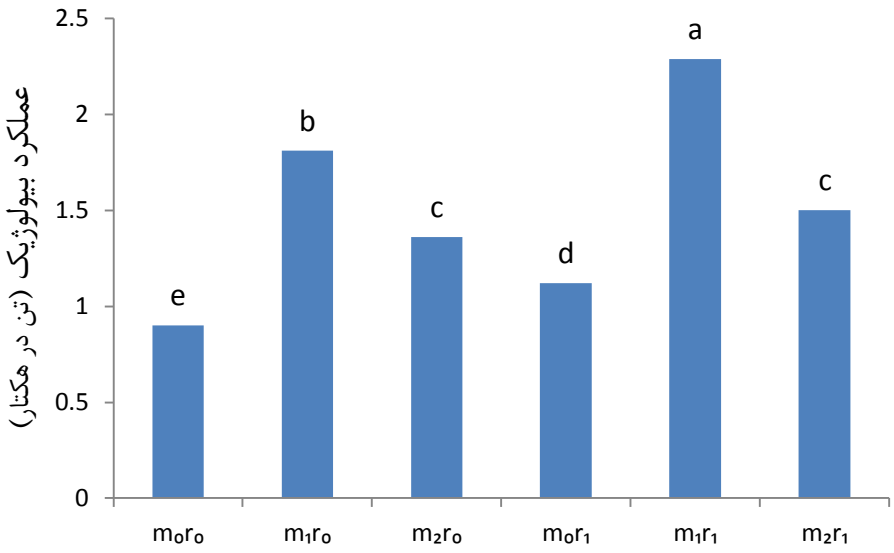
آلبایراک و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند تلقیح ارقام معمولی ماش با باکتری ریزوبیوم منجر به افزایش عملکرد بیولوژیک (۸/۵ درصد)، عملکرد کاه (۱۰/۴ درصد) در مقایسه با ارقام تلقیح نشده گردید. هر گونه کاهش در فراهمی نیتروژن در طی دوره رشد گیاه موجب کاهش شاخص سطح برگ و دوام برگ‌ها شده، فعالیت فتوسنتزی کانوپی را کاهش می‌دهد که نتیجه‌ی این شرایط، کاهش در تولید برگ و وزن خشک برگ می‌باشد. علی و همکاران (۲۰۰۸) نیز طی بررسی روی نخود اعلام کردند در محیط کشتی که ریزوبیوم وجود دارد عملکرد دانه و عملکرد علوفه افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان می دهد. افزایش تجمع ماده خشک ممکن است به دلیل تامین نیازهای غذایی گیاه، تهویه بهتر ریشه‌ها و رشد بیش‌تر آن‌ها و هم‌چنین افزایش میزان فتوسنتز خالص باشد. در واقع با فراهمی نیتروژن توسط باکتری ریزوبیوم موجب می‌شود رشد رویشی گیاه بیش‌تر شده در نتیجه عملکرد بیولوژیک افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در هکتار مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا با ۲/۰۵ تن در هکتار بود که ۸۶/۳۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت و کم‌ترین میزان عملکرد بیولوژیک در هکتار مربوط به تیمار شاهد با ۱,۱ تن در هکتار بود هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۱/۴۳ تن در هکتار بود که ۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (جدول پیوست ۴-۴). در بررسی لایی و همکاران (۲۰۱۱) دیده شد وزن خشک و ارتفاع ساقه گیاه، سورگوم میکوریزایی بیش‌تر از گیاهان بدون میکوریزا است. محققان مختلف نیز نشان داده‌اند که تلقیح قارچ‌های میکوریز با گیاهان، باعث افزایش وزن اندام‌های هوایی گیاه می‌شود (عزیزه و همکاران، ۱۹۹۵؛ گراویتو و واردا، ۱۹۹۵؛ سوبرامانیان و کارست، ۱۹۹۷). این افزایش وزن ناشی از تاثیر قارچ میکوریزا بر جذب عناصر غذایی متعددی مانند نیتروژن، فسفر، مس، روی است. افزایش وزن خشک برگ و ساقه می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه باشد به گونه‌ای که الکراکی و الراداد (۱۹۹۷) اظهار داشتند که این افزایش رشد ممکن است نشان‌دهنده‌ی تشدید فتوسنتز همراه با افزایش جذب فسفر در گیاهان باشد. به نظر می‌رسد همزیستی میکوریزایی

از طریق تغذیه مناسب موجب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و در نهایت سبب عملکرد و اجزای عملکرد می‌شود و گیاهان میکوریزایی می‌توانند فسفر غیرقابل دسترس گیاهان که با فاصله دورتری نسبت به ریشه‌های آن‌ها قرار دارند و از طریق میسیلیوم‌های خود جذب نمایند و به تحریک همزیستی میکوریزایی کمک کنند و در نتیجه باعث جذب بیش‌تر مواد غذایی توسط ریشه شوند. کاتلین و همکاران (۲۰۰۶) اعلام کردند عملکرد بیولوژیک (وزن خشک گیاه) بسیاری از گیاهان که با میکوریزا همزیستی دارند نسبت به گیاهانی که در محیط رشدشان میکوریزا وجود ندارد بالاتر است.

همان طور که در جدول مقایسه میانگین ۴-۴ مشاهده می‌شود عملکرد بیولوژیک در هکتار در بوته-های تلقیح یافته با باکتری تیوباسیلوس به میزان ۱/۵۸ تن در هکتار بدست آمد که ۱۲/۰۵ درصد نسبت به شاهد (۱/۴۱ تن در هکتار) افزایش نشان داد.

بر هم‌کنش ریزوبیوم و میکوریزا تاثیر معنی‌داری بر عملکرد بیولوژیک در هکتار داشت به طوری که نتایج حاصل نشان داد تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند (شکل ۴-۱۸). بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک با کاربرد باکتری ریزوبیوم همراه با گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۲/۲۹ تن در هکتار و کم‌ترین عملکرد بیولوژیک در هکتار در تیمار شاهد به میزان ۰/۹ تن در هکتار به دست آمد. حمیدی و همکاران (۱۳۸۴) افزایش وزن خشک کل و برگ ذرت را در اثر کاربرد کودهای زیستی گزارش دادند. آنان دلیل این موضوع را بهبود دسترسی و جذب عناصر غذایی ذکر کردند و بیان داشتند که این موضوع در نهایت باعث افزایش تجمع ماده خشک در ذرت شده است. کودهای زیستی در تامین موادغذایی بیش‌تر سهیم هستند و موادغذایی بیش‌تری جذب می‌کنند پس فتوسنتز بیش‌تری انجام می‌دهند در نتیجه به طور مستقیم روی وزن خشک تاثیر گذار هستند. با مصرف کود-های زیستی به علت جذب و افزایش عناصر غذایی قابل دسترس و اصلاح خواص فیزیکی خاک تولید شاخ و برگ بیش‌تر افزایش یافت. زیرا با افزایش قابل دسترس عناصر، تحت تاثیر این تیمارها، رشد و نمو و فتوسنتز گیاه افزایش یافته و سطح سبزینه‌ای گیاه زیاد می‌شود.



شکل۴-۱۸: تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر عملکرد بیولوژیک (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)

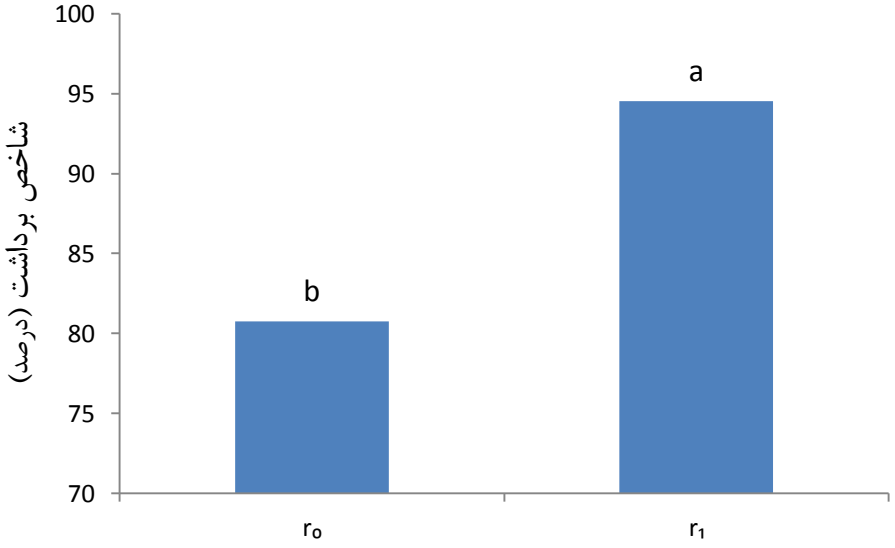
۴-۱۰- شاخص برداشت

بررسی نتایج حاصل از این تحقیق در جدول تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴-۲) بیانگر آن است که کاربرد باکتری ریزوبیوم تاثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر شاخص برداشت لوبیا چشم بلبلی داشت. سایر عوامل مورد بررسی شامل اثر اصلی قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا بر باکتری تیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر تیوباسیلوس و اثر متقابل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس معنی‌دار نشد.

این صفت که حاصل نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک می‌باشد، همبستگی زیادی با عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک دارد و در واقع توضیحی است بر این که چه مقدار آسمیلات‌ها از سایر اندام گیاه به دانه اختصاص یافته است (ناظری و همکاران، ۱۳۸۹).

مطابق نتایج به دست آمده تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری شاخص برداشت را افزایش داد به این ترتیب شاخص برداشت در تلقیح با باکتری به میزان ۹۴/۵۱ درصد بود و ۱۳,۷۶ درصد نسبت به شاهد (۸۰/۷۵) افزایش یافت (شکل ۴-۱۹).

اختر و سیدیکویی (۲۰۰۸) در گیاه نخود نتیجه گرفتند که تلقیح باریزوبیوم به طور معنی داری موجب افزایش وزن خشک شاخساره و عملکرد گردید. از آن‌جا که شاخص برداشت نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک است، افزایش شاخص برداشت در صورت کافی بودن اندام‌های فتوسنتز کننده منجر به افزایش عملکرد دانه می‌گردد، زیرا در پایان دوره رشد گیاه مقدار قابل توجهی از مواد فتوسنتزی ساخته شده در طول دوره رشد به دانه‌ها وارد می‌شوند.



شکل ۴- ۱۹: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر شاخص برداشت (r۰= شاهد یا عدم کاربرد، r۱= کاربرد)

۴-۱۱- درصد کلونیزاسیون ریشه

بررسی نتایج حاصل از این تحقیق در جدول پیوست ۴-۲ بیانگر آن است که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد و هم‌چنین باکتری تیوباسیلوس در سطح ۵ درصد بر درصد کلونیزاسیون ریشه نسبت به شاهد داشتند. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر کلونیزاسیون ریشه نداشتند.

مطابق نتایج به دست آمده تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری کلونیزاسیون ریشه را افزایش داد به این ترتیب کلونیزاسیون ریشه در تلقیح با باکتری به میزان ۶۷/۰۸ درصد بود و ۷/۹۲ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت (شکل ۴-۲۰).

بیانسیتو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند، ریزوبیوم‌ها می‌توانند از طریق پلی ساکاریدهای خارج سلولی به هیف‌های قارچ بچسبند و از آن‌ها به عنوان وسیله‌ای برای کلونیزاسیون روی ریشه گیاه استفاده کنند. هم‌چنین ریزوبیوم استقرار میکوریزا را به وسیله تولید پلی‌ساکاریدها افزایش می‌دهد که منجر به سنتز آنزیم پلی‌گالاکتوروناز در محل آلودگی می‌شود، بدین ترتیب تسهیل نفوذپذیری قارچ میکوریزا به سلول‌های ریشه بهتر امکان پذیر می‌گردد (تلت و عبدالله، ۲۰۰۸). بسیاری از محققین تولید اسید سولفوریک ناشی از اکسایش گوگرد و فعالیت تیوباسیلوس را گزارش کرده‌اند (تات، ۱۹۹۵).

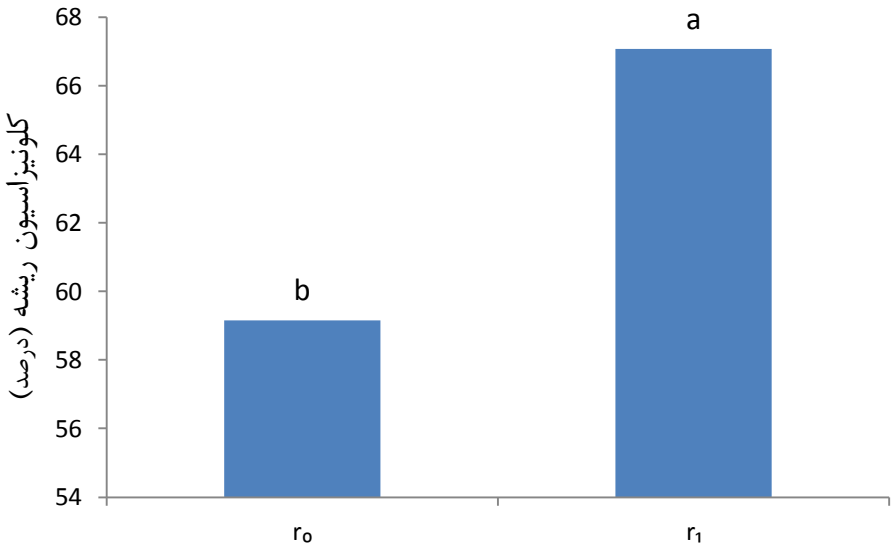
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین درصد کلونیزاسیون ریشه مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا با ۷۶/۵۶ درصد بود که ۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت و کم-ترین میزان درصد کلونیزاسیون ریشه مربوط به تیمار شاهد به میزان ۴۶/۵۶ درصد بود. هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۶۶/۲۵ بود که ۱۹/۶۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (شکل ۴-۲۱).

آراموگام و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند کلونیزاسیون ریشه گیاه لوبیا چشم بلبلی فقط در تیمار-های تلقیح با آرباسکولار و تلقیح دو گانه آرباسکولار و ریزوبیوم وجود دارد و تیمار مصرف باکتری ریزوبیوم به تنهایی کلونیزاسیون ریشه نداشتند. نشان داده شده است که تلقیح ریزوبیوم با قارچ آربسکولار میکوریزا گونه‌ی *G.mosseae* منجر به افزایش کلونیزاسیون ریشه می‌شود و این پیشنهاد شده است که این افزایش ریشه ناشی از تغییر محتوی فلاونویید در ترشحات ریشه‌ی ریزوبیا و ریشه‌ها بود (بولانوس، ۱۹۹۷؛ اسچمیت و همکاران، ۱۹۹۴). برین و همکاران (۱۳۸۴) با بررسی اثر تلقیح میکوریزایی بر روی خصوصیات رشدی و تغذیه‌ای گوجه فرنگی به این نتیجه رسیدند که گیاهان

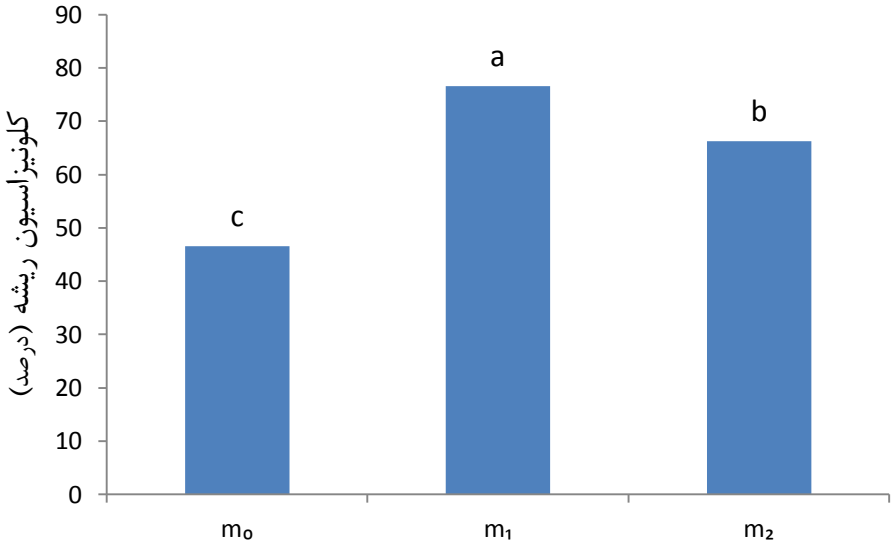
تلقیح شده با قارچ میکوریزایی نسبت به گیاهان تلقیح نشده با قارچ میکوریزا از درصد کلونیزاسیون بالاتری برخوردار بودند. در تحقیقات گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) در ریشه گیاه نعنا، حامدا و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه برنج، درزی و همکاران (۱۳۸۸) در گیاه رازیانه، آراموگام و همکاران (۲۰۱۰) در گیاه لوبیا چشم بلبلی و دیگو و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه انگور فرنگی اظهار کردند که گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزایی نسبت به گیاهان تلقیح نشده با قارچ میکوریزا از درصد کلونیزاسیون بالاتری برخوردار بودند. نتایج پژوهشی در گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavandula spica*) که در پوشش-های طبیعی صورت گرفت، حاکی از آن بود که آلودگی میکوریزایی ریشه گیاه موجب افزایش درصد همزیستی و بهبود میزان جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم گردید (آزکون و بارئا، ۱۹۹۸). در این پژوهش ثابت شد که استفاده از مخلوط دو نوع قارچ در ایجاد رابطه همزیستی بسیار موثرتر از کاربرد جداگانه دو گونه قارچ می باشد .با بررسی روابط هبستگی بین شدت کلونیزاسیون و فاکتورهای رشد و هم‌چنین کیفیت و کمیت تولید ریزغده نیز مشخص شد که در تیمارهایی مایه کوبی شده با مخلوط دو گونه در کلیه صفات مورد اندازه گیری همبستگی معنی دار ایجاد شد . به نظر می رسد که در ایجاد رابطه همزیستی، دو گونه قارچ بر همدیگر هم‌کنش مثبت داشته و با تقویت اثر همدیگر پاسخ سیگنالی موثرتری را در جهت استقرار بر ریشه در گیاهچه های سیب زمینی به‌وجود می آورند . قابلیت بالای مخلوط قارچ های میکوریزا در ایجاد رابطه همزیستی موثرتر در گیاهچه های سیب زمینی قبلا در پژوهشی دیگر نیز به اثبات رسیده بود (الیزابت و همکاران، ۲۰۰۰).

مطابق شکل ۴-۲۲ مشاهده می‌شود کلونیزاسیون ریشه از ۶۰/۴۱ درصد در تیمار شاهد به ۶۵/۸۳ درصد در تیمار تلقیح با باکتری تیوباسیلوس افزایش پیدا کرد. به طوری که تیمار تلقیح با باکتری ۵/۴۲ درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد. در حالت عادی، افزایش در pH خاک و شوری، میزان کلونیزاسیون و ترکم اسپور قارچ‌ها را کاهش می‌دهد (ایلنا و همکاران، ۲۰۰۷). تحقیقات فراوانی در رابطه با نقش همزیستی میکوریزایی بر افزایش رشد و عملکرد گونه‌های زراعی،

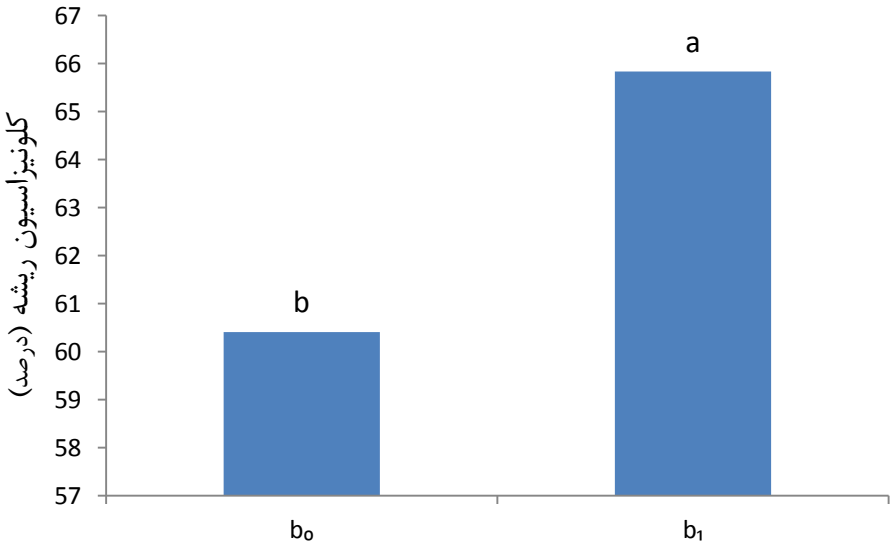
باغی زینتی و سبزیجات انجام گرفته است. قارچ میکوریزا با جذب بیش‌تر فسفر محلول در خاک منجر به افزایش طول ریشه در نتیجه افزایش درصد کلونیزاسیون می‌گردد.



شکل ۴- ۲۰: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر کلونیزاسیون (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل ۴- ۲۱: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر کلونیزاسیون (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۲۲: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۱۲- شاخص کلروفیل (عدد SPAD)

همان‌طور که در جدول پیوست ۴-۳ مشاهده می‌شود که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر شاخص کلروفیل داشتند. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر شاخص کلروفیل نداشتند.

بیش‌تر از ۹۰ درصد ماده خشک تولید شده توسط یک گیاه ناشی از فتوسنتز برگ‌هاست (هاشمی-دزفولی و همکاران، ۱۹۹۶). کلروفیل‌ها ماده رنگینه سبز گیاهان و مهم‌ترین مواد رنگی فعال در فتوسنتز و نخستین رنگیزه‌های جذب کننده نور می‌باشند. SPAD مقدار کلروفیل برگ را بدون آسیب رساندن به گیاه تعیین می‌کند و مقدار نسبی کلروفیل را بر اساس مقدار جذب نور قرمز مشخص می‌نماید. زیرا کلروفیل نور قرمز را با کارایی بالا جذب کرده و بر اساس ارتباط بین مقدار جذب آن و مقدار نور اولیه منتشر شده از یک منبع نوری در داخل دستگاه، سنجش مقدار کلروفیل

انجام می‌شود. بنابراین جذب نور قرمز بیش‌تر به معنای حضور بیش‌تر کلروفیل و گیاه سبزتر و شاداب‌تر است (فرانسیس و پایکایلیک، ۲۰۰۰).

مطابق نتایج به دست آمده بین مصرف باکتری ریزوبیوم و عدم مصرف آن در صفت شاخص کلروفیل تفاوت معنی‌داری وجود دارد. شکل ۴-۲۳ نشان داد که تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به طور معنی-داری شاخص کلروفیل را افزایش داد به طوری که شاخص کلروفیل برگ بوته‌های تلقیح شده با باکتری به میزان ۹۶/۳۱ عدد SPAD بیش‌ترین مقدار بود و ۱۰/۱۰ درصد نسبت به شاهد (۴۷/ ۸۷ عدد SPAD) افزایش داشت. ریزوبیوم موجب شادابی ظاهری برگ‌ها می‌شود و هنگامی که برگ‌ها سبز و شاداب باشند برگ و شاخه‌ی زیادی تولید می‌کنند و در نتیجه مواد فتوسنتزی بیش‌تری بدست خواهد آمد و فتوسنتز عامل اصلی تولید ماده خشک است.

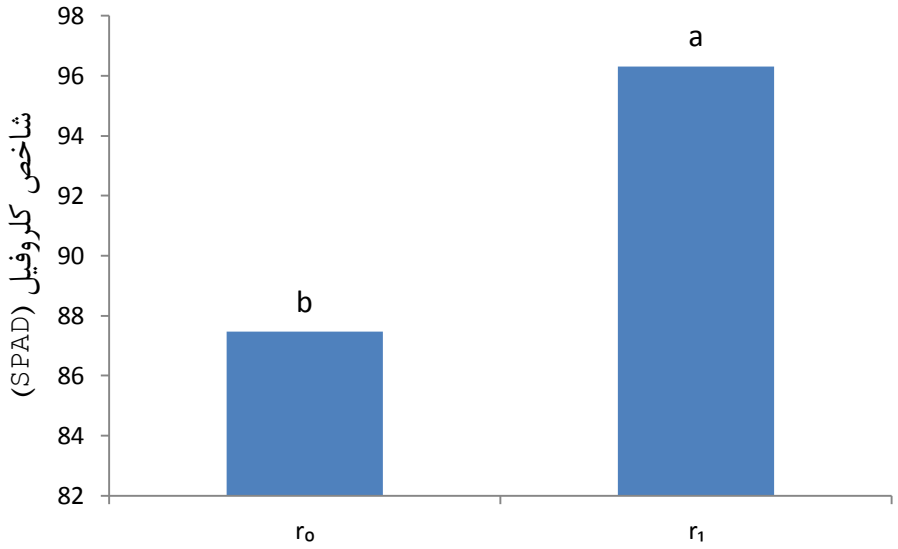
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین شاخص کلروفیل مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا با ۱۰۸/۳۸ عدد SPAD بود که ۴۶/۷۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت و کم-ترین میزان شاخص کلروفیل مربوط به تیمار شاهد با ۷۳/۸۴ عدد SPAD بود. هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان۴۳/۹۳ عدد SPAD بود که ۲۶/۵۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (شکل ۴-۲۴).

کاماتا و همکاران، (۲۰۰۴) در یک آزمایش اثر سه نوع قارچ میکوریزا بر گیاه توت سفید مورد بررسی قرار دارند و اظهار داشتند که گیاهان تلقیح شده با میکوریزا ماده خشک بیش‌تری در برگ‌های خود ذخیره کردند، هم‌چنین محتوای کلروفیل برگ در ۹۰ روز پس از کاشت نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. افزایش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل فراهمی بیش‌تر مواد غذایی ریز مغذی توسط قارچ میکوریزا باشد که برای تولید کلروفیل بسیار مهم هستند (ظهیر و همکاران، ۲۰۰۴). قارچ‌های میکوریزا با افزایش جذب عناصر ضروری در بیوسنتز کلروفیل‌ها (شامل منیزیم و آهن) می‌توانند موجب افزایش ساخت این رنگیزه‌ها و در نهایت افزایش میزان فتوسنتز شوند (کریشنا، ۲۰۰۵). جیا و همکاران (۲۰۰۴) گزارش داد که تلقیح با قارچ آربسکولار میکوریزا تولید زیست توده و

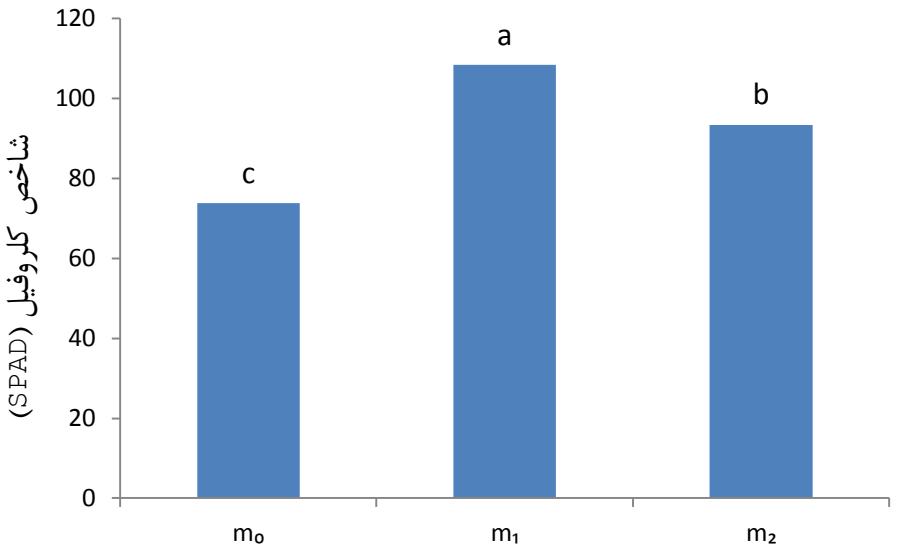
نرخ فتوسنتز در باقلا بدلیل افزایش عرضه ی فسفر توسط تلقیح قارچ آربسکولار میکوریزا را افزایش داد.

مطابق شکل ۴-۲۵ شاخص کلروفیل از ۸۹/۶۸ عدد SPAD در تیمار شاهد به ۹۴/۱ عدد SPAD در تیمار تلقیح با باکتری تیوباسیلوس افزایش پیدا کرد که ۴/۹۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت.

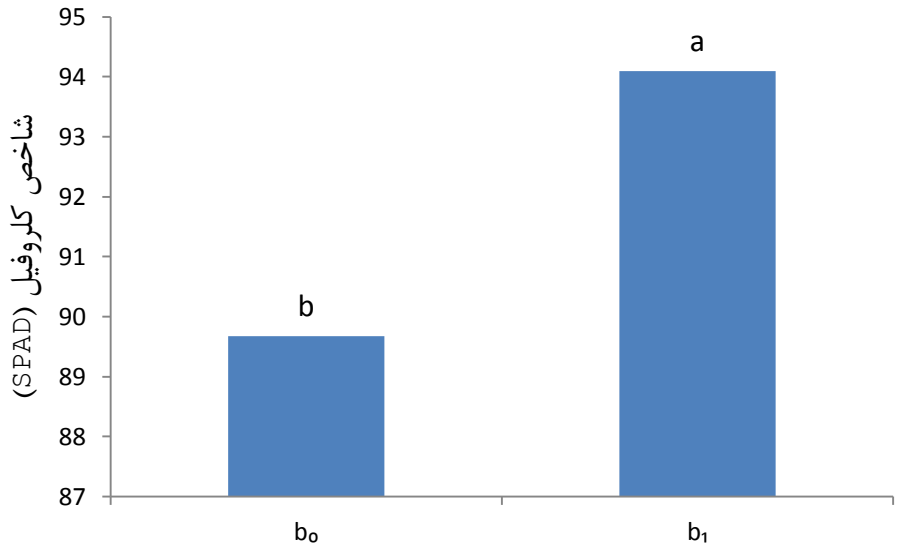
گوگرد علاوه بر شرکت در ترکیب‌های اسید آمینه، ویتامین‌ها و آنزیم‌ها در ساخت کلروفیل نیز ضروری است (آستا، ۱۳۸۸). خاوازی و ملکوتی (۱۳۸۰) نتیجه گرفتند که باکتری تیوباسیلوس از طریق اکسایش گوگرد به جذب گوگرد و سایر عناصر غذایی مانند فسفر، آهن و روی کمک کرده و باعث افزایش محتوای کلروفیل و به تبع آن افزایش عملکرد گیاه می‌شود. با توجه به نقش گوگرد در ساخت کلروفیل می‌توان این نتیجه را گرفت که استفاده از گوگرد تاثیر مثبتی بر میزان کلروفیل داشته است.



شکل ۴- ۲۳: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر شاخص کلروفیل (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r۱= کاربرد)



شکل ۴- ۲۴: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر شاخص کلروفیل (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۲۵: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر شاخص کلروفیل (b.= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۱۳- مقدار کلروفیل

۴- ۱۳- ۱ کلروفیل a

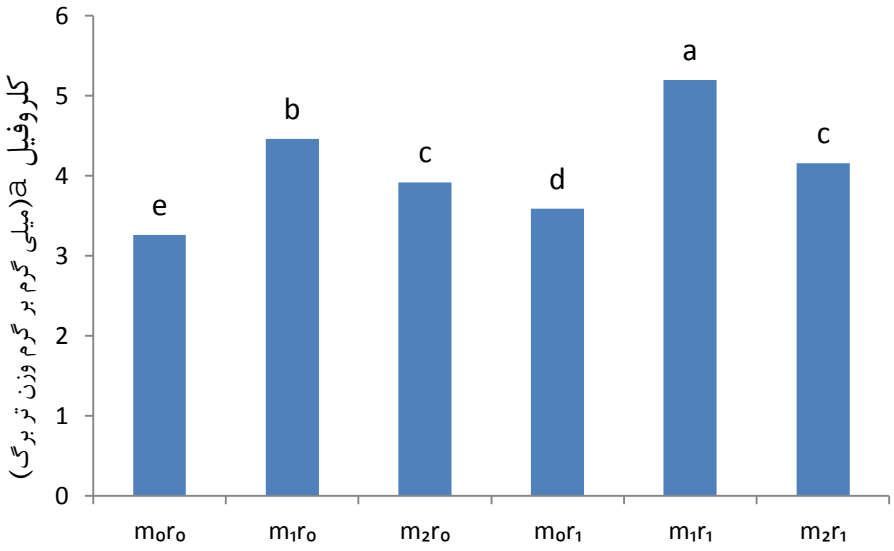
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد و هم‌چنین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر کلروفیل a داشتند. سایر عوامل مورد بررسی شامل اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری تیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر باکتری تیوباسیلوس و اثر سه گانه قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و باکتری تیوباسیلوس معنی‌دار نشد (جدول پیوست ۴-۳).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین این آزمایش نشان داد که کاربرد باکتری ریزوبیوم به میزان ۴/۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ موجب افزایش ۱۱ درصدی کلروفیل a نسبت به شاهد (۳/۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) شد (جدول پیوست ۴-۴). اگرچه در سایر مطالعات افزایش میزان کلروفیل در تیمارهای تلقیح شده با ریزوبیوم نسبت به تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) اثبات شده است ولی می-توان بیان داشت که رشد سبزینه‌ای مطلوب در تیمارهای باکتریایی، با توجه به نتایج و مشاهدات مزرعه‌ای، حاکی از فعالیت مطلوب سیستم تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بوده و تاثیرات آن را در صفات دیگر ظهور کرده است (یامان و کینسوی، ۱۹۹۶).

مطابق نتایج به دست آمده از این تحقیق بیش‌ترین میزان کلروفیل با کاربرد گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۴/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که ۴۱ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) بیش‌تر بود و کم‌ترین کلروفیل a در تیمار شاهد به میزان ۳/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بدست آمد (جدول پیوست ۴-۴). هم‌چنین کلروفیل a با کاربرد گونه *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۴/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که ۱۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. (فنگ و همکاران، ۲۰۰۲؛ بیان و همکاران، ۲۰۰۱) گزارش کردند که تلقیح گیاه با قارچ گونه-ی *G.mosseae* به تنهایی منجر به افزایش قابل توجهی در محتوی کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد شد.

هم‌چنین کلروفیل a تحت تاثیر تلقیح با باکتری تیوباسیلوس نیز قرار گرفت به گونه‌ای که کلروفیل a از ۳/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار شاهد به ۴/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار تلقیح با باکتری تیوباسیلوس افزایش پیدا کرد به گونه‌ای که کلروفیل a در گیاه تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس به میزان ۷ درصد بیش‌تر از گیاه شاهد (عدم تلقیح) بود (جدول پیوست ۴-۴).

اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا موجب افزایش معنی‌داری در کلروفیل a شد. به طوری که کم‌ترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار شاهد (۳/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و بیش‌ترین کلروفیل a مربوط به تیمار کاربرد باکتری ریزوبیوم همراه با گونه *G.mosseae* قارچ میکوریزا (۵/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) به دست آمد (شکل ۴-۲۶).



شکل۴-۲۶:تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل a (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)

۴-۱۳-۲- کلروفیل b

نتایج حاصل از جدول پیوست ۴-۳ نشان داد که اثرات ساده تیمارهای مورد بررسی شامل باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر

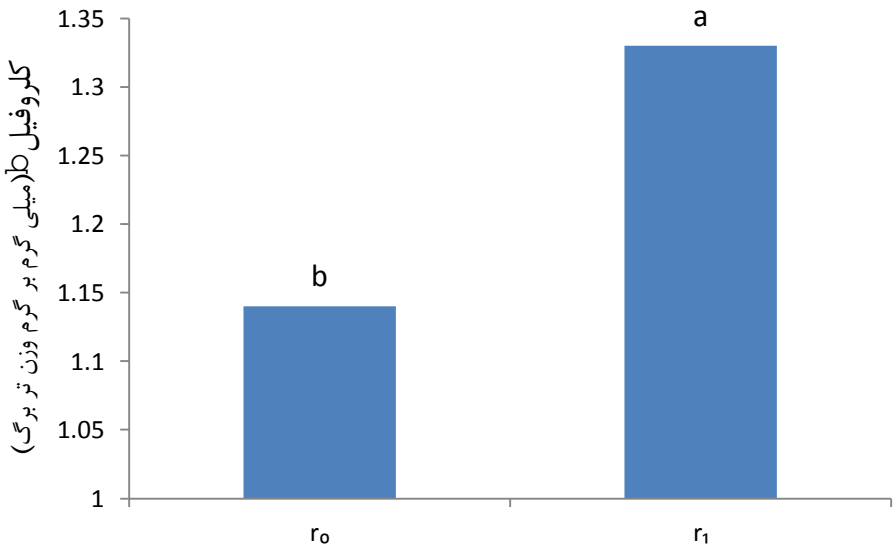
کلروفیل b داشتند. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر کلروفیل b نداشتند.

مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴-۳) بین مصرف باکتری ریزوبیوم و عدم مصرف آن در صفت کلروفیل b تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری کلروفیل b را افزایش داد به طوری که میزان کلروفیل برگ بوته-های تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم به میزان ۱/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیش‌ترین مقدار بود و ۱۶/۶۶ درصد نسبت به شاهد (۱/۱۴میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش داشت (شکل ۴-۲۷).

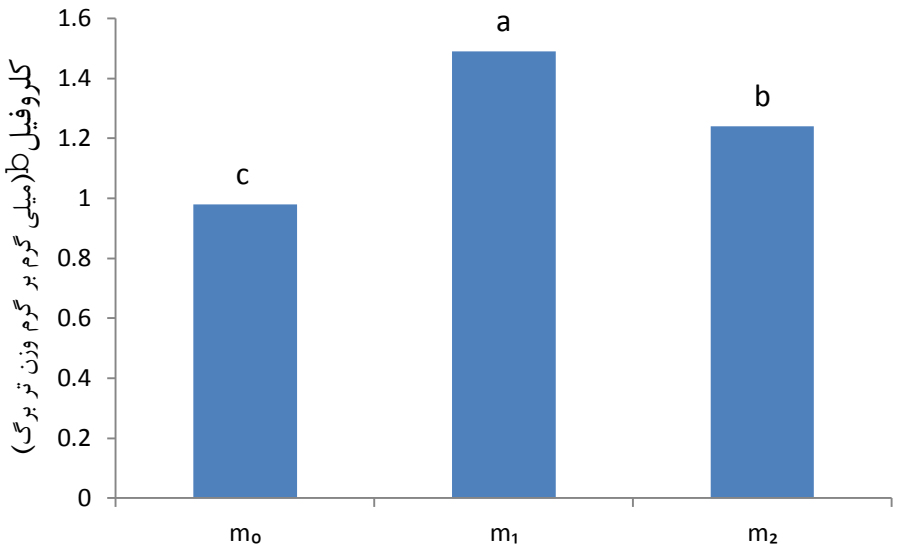
هم‌چنین بین سطوح مختلف قارچ میکوریزا از نظر میزان کلروفیل b اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به این صورت که در تیمار گونه *G.mosseae* قارچ میکوریزا با تولید ۱/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیش‌ترین میزان کلروفیل b و در تیمار شاهد با میزان ۰/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ کم-ترین میزان کلروفیل b وجود داشت. به این ترتیب کلروفیل b در برگ در تلقیح با گونه *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۵۲/۰۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافته بود. هم‌چنین گونه ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۱/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که ۲۶/۵۳ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش نشان داد (شکل ۴-۲۸).

بررسی شریفی و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که تلقیح قارچ میکوریزای آربسکولار با ریشه‌ی گیاه ریحان به طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص‌های رشد و کلروفیل a و b در مقایسه با بوته‌های شاهد شد. بر اساس گزارش دیمیر (۲۰۰۴) همزیستی با قارچ میکوریزا میزان فتوسنتز در فلفل را نسبت به گیاهان شاهد بهبود می‌بخشد. افزایش میزان فتوسنتز در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا به علت بهبود جذب فسفر و افزایش محتوای کلروفیل می‌باشد (حبیب زاده و همکاران، ۱۳۹۱). یکی از مهم‌ترین شاخص‌های رشد فعالیت فیزیولوژیک گیاه که به محتوای کلروفیل در گیاه وابسته می‌باشد فتوسنتز است. از این رو ممکن است همزیستی میکوریزی سبب جابه‌جایی قاعده‌گرای محصولات فتوسنتزی به سمت ریشه‌ها شده و بدین سان محرکی برای انجام فعالیت فتوسنتزی بیش‌تر باشد.

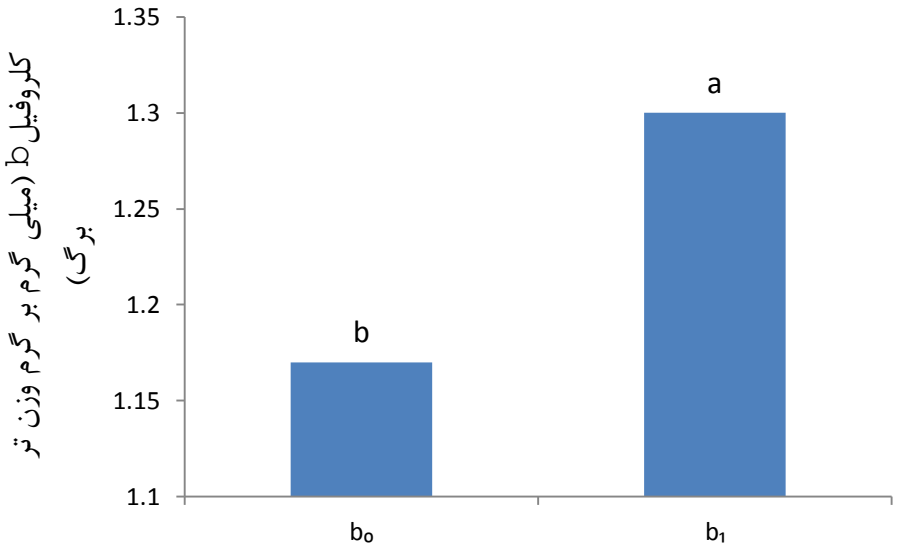
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد بین مصرف باکتری تیوباسیلوس و عدم مصرف آن در صفت کلروفیل b تفاوت از نظر آماری وجود داشت. شکل ۴-۲۹ نشان داد که تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس کلروفیل b را افزایش داد به گونه‌ای که کلروفیل b به میزان ۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیش‌ترین مقدار بود و ۱۱/۱۱ درصد نسبت به شاهد (۱/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش نشان داد.



شکل ۴- ۲۷: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل b (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل ۴- ۲۸: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر شاخص کلروفیل b (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۲۹: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر کلروفیل b (b.= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۱۳-۳- کاروتنوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس جدول پیوست ۴-۳ نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس بر کاروتنوئید برگ لوبیا چشم بلبلی در سطح یک درصد و هم-

چنین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. سایر عوامل مورد بررسی شامل اثر متقابل قارچ میکوریزا بر باکتری تتیوباسیلوس، باکتری ریزوبیوم بر باکتری تیوباسیلوس و اثر سه گانه قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و باکتری تیوباسیلوس معنی‌دار نشد.

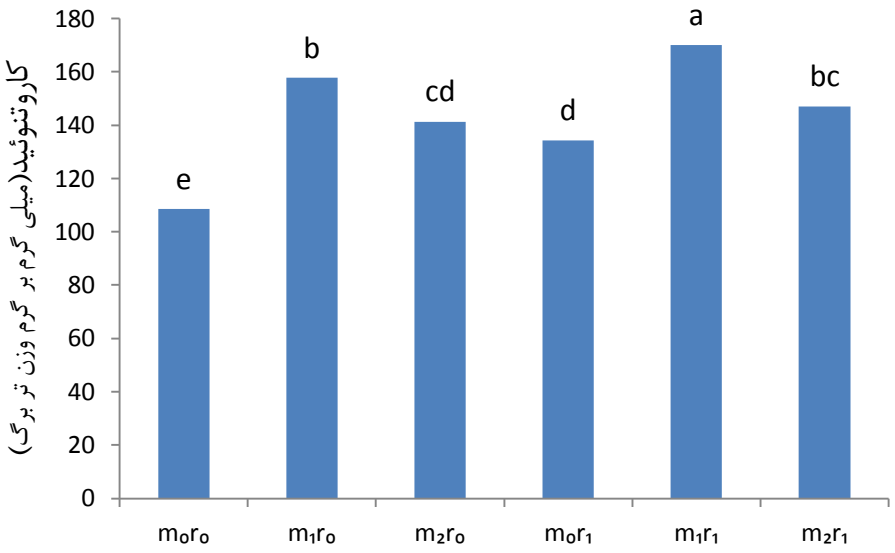
نتایج حاصل از مقایسه میانگین جدول پیوست ۴-۴ در این آزمایش نشان داد که تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌داری کاروتنوئید برگ را افزایش داد به طوری که کاروتنوئید برگ بوته-های تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم به میزان ۱۵۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیش‌ترین مقدار بود و ۱۰/۷۸ درصد نسبت به شاهد (۱۳۵/۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش داشت.

مطابق نتایج حاصل از این آزمایش، بیش‌ترین کاروتنوئید مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۱۶۳/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که ۳۴/۹۵ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) بیش‌تر بود و کم‌ترین میزان کاروتنوئید مربوط به تیمار شاهد (عدم تلقیح) به میزان ۱۲۱/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود. هم‌چنین با کاربرد گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۱۴۴/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که ۱۸/۷۳ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت (جدول پیوست۴-۴). نتایج تحقیق ال‌خاطب و همکاران ۲۰۱۲ بر روی گیاه اقاقیا بیان داشتند که محتوی کارتنوئید در تیمار تلقیح شده با میکوریزا افزایش معنی‌داری دارد.

طبق جدول پیوست ۴-۴ تلقیح بذر با باکتری تیوباسیلوس به میزان ۱۴۷/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیش‌ترین مقدار بود و ۶/۳۲ درصد نسبت به عدم تلقیح (۱۳۸/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش یافت.

هم‌چنین اثر متقابل باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری بر کاروتنوئید داشت. بیش‌ترین میزان کاروتنوئید با استفاده ریزوبیوم همراه با میکوریزا به دست آمد که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد. به طوری که کم‌ترین میزان کاروتنوئید مربوط به تیمار شاهد و بیش‌ترین میزان کاروتنوئید مربوط به تیمار کاربرد باکتری ریزوبیوم همراه با گونه *G.mosseae* قارچ میکوریزا

به ترتیب به میزان ۱۰۸/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و ۱۷۰/۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به‌دست آمد (شکل ۴-۳۰).



شکل۴-۳۰: تاثیر بر همکنش قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر کاروتنوئید (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)، (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)

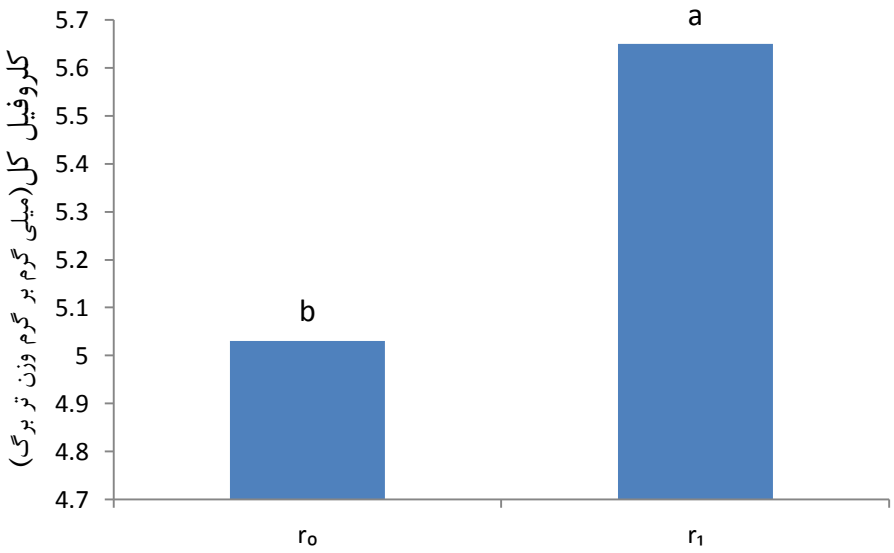
۴-۱۳-۴- کلروفیل کل

بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر کلروفیل کل برگ لوبیا چشم بلبلی داشت (جدول پیوست ۴-۳). اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر کلروفیل کل نداشتند.

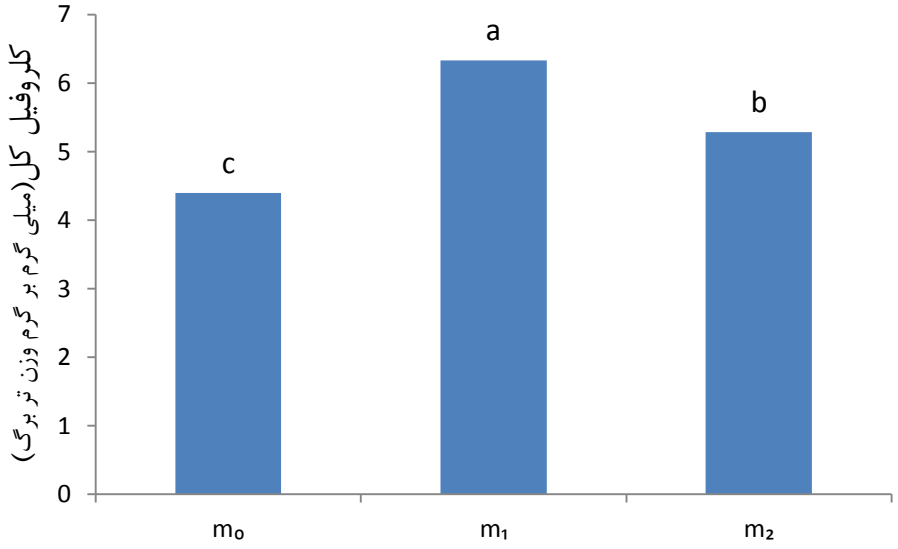
مطابق جدول تجزیه واریانس تاثیر تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل کل معنی‌دار بود (شکل ۴-۳۱). به طوری که تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم به میزان ۵/۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ موجب افزایش ۱۲/۳۲ درصدی کلروفیل کل نسبت به شاهد (۵/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) شد.

نتایج این پژوهش نشان داد کلروفیل کل تحت تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا قرار گرفت (جدول پیوست ۴-۳). بیش‌ترین میزان کلروفیل کل مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* به میزان ۶/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که ۴۳/۸۶ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود و کم‌ترین میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد به میزان ۴/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بدست آمد و هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا با میزان ۵/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ حدود ۲۰ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود (شکل ۴-۳۲). سلواراج و همکاران (۲۰۰۶) اظهار کردند که تیمارهای میکوریزایی دارای سطح کلروفیل و کاروتنوئید بالاتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی می باشند. بالا بودن سطح کلروفیل در نمونه های میکوریزایی را می توان به بالا بودن جذب فسفر به‌عنوان یک حامل انرژی در طی فرآیند فتوسنتز نسبت داد.

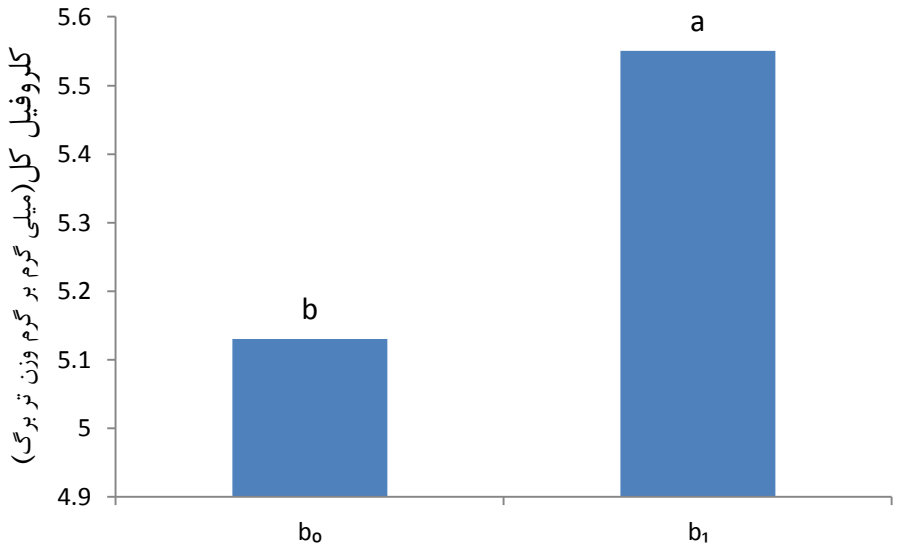
مطابق شکل ۴-۳۳ کلروفیل کل از ۵/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار شاهد به ۵/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار تلقیح با باکتری تیوباسیلوس افزایش پیدا کرد و حدود ۸/۱۸ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد.



شکل ۴- ۳۱: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل کل (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل ۴- ۳۲: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر شاخص کلروفیل کل (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۳۳: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر کلروفیل کل (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۱۴- درصد پروتئین دانه

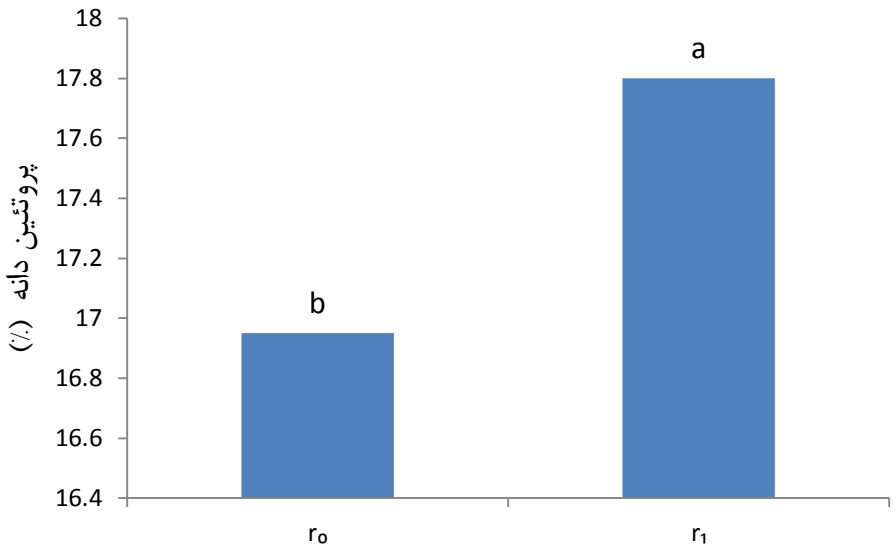
بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر درصد پروتئین دانه لوبیا چشم بلبلی داشت (جدول پیوست ۴-۳). اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر درصد پروتئین دانه نداشتند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین درصد پروتئین دانه مربوط به تیمار تلقیح باکتری ریزوبیوم با ۱۷/۸۰ درصد بود که ۰/۸۵ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد (۱۶/۹۵ درصد) بود (شکل ۴-۳۴). شواهد حاکی از آن است که تثبیت بالاتر نیتروژن و انتقال نیتروژن بیش‌تر به دانه باعث افزایش درصد پروتئین در تیمارهایی می‌شود که در آن‌ها تثبیت بیولوژیکی پروتئین بالاتر است و از طرف دیگر این تاثیر در خاک‌هایی که دارای باکتری ریزوبیوم می‌باشد بیش‌تر است (لفل و همکاران، ۱۹۹۲). اسدی رحمانی و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثر سویه‌های باکتری بر عملکرد و خصوصیات کیفی لوبیا گزارش نمودند که سویه برتر معرفی شده در شرایط مزرعه ای باعث افزایش ۸۷ درصد در عملکرد دانه و افزایش درصد در پروتئین دانه گردید. در پژوهشی گزارش گردید که گیاه سویا در شرایط تلقیح با باکتری ۱۰ درصد پروتئین بیش‌تری نسبت به شرایط عدم تلقیح دارد و کاربرد کود نیتروژن می‌تواند مقدار پروتئین دانه را تقریبا به سطحی معادل گیاهان تلقیح شده برساند (کریشنان و همکاران، ۲۰۰۰). از نقش‌های مهم نیتروژن در گیاهان، مشارکت در تولید پروتئین‌هاست (اصغر و همکاران، ۲۰۰۲). در این ارتباط، گزارش شده است که درصد نیتروژن و درصد پروتئین دانه‌ی نخود دیم با تلقیح بذور باکتری و مصرف کود نیتروژن، افزایش یافته است (سلیمانی و اصغرزاده، ۲۰۱۰).

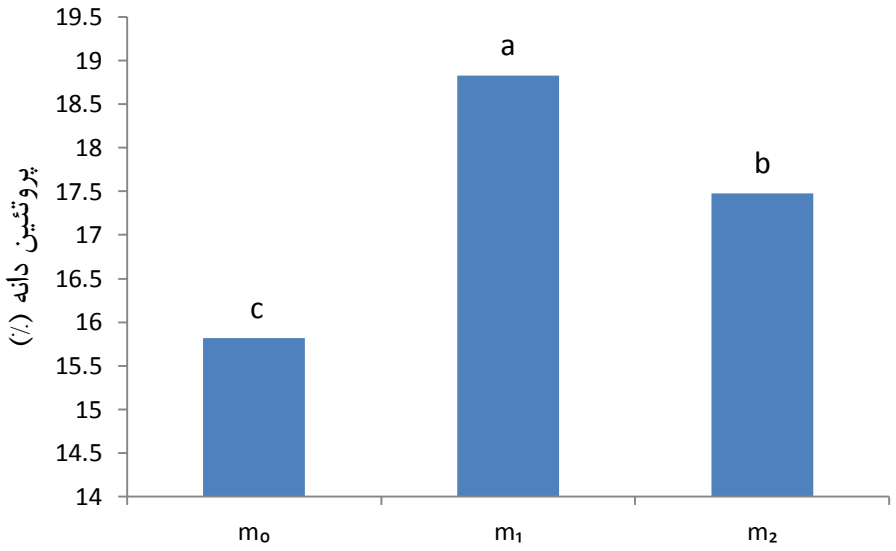
بیش‌ترین درصد پروتئین دانه مربوط به تیمار گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان ۱۸/۸۳ درصد بود که ۳/۰۱ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) بیش‌تر بود و کم‌ترین درصد پروتئین دانه مربوط به تیمار شاهد به میزان ۱۵/۸۲ درصد بود. هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۱۷/۴۸ درصد بود که ۱/۶۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (شکل ۴-۳۵). اسمیت و

همکاران (۱۹۸۵) نشان دادند که قارچ‌های میکوریزای وزیکولار آرباسکولار از طریق تولید گلوتامین سنتتاز قادرند آمونیوم را سنتز کنند. این قابلیت می‌تواند در جذب نیتروژن از خاک و انتقال در داخل گیاه اهمیت داشته باشد. از طرفی از آن‌جایی که میکوریزا سبب گسترش سیستم ریشه های می‌شود قادر است تا عناصر غذایی را از نقاط دورتر نیز جذب کند. در نتیجه این دلایل موجب جذب بیش‌تر نیتروژن توسط گیاه می‌گردد که حاصل آن نیز، افزایش در درصد پروتئین گیاه شد. در آزمایشی که روی کلزا انجام شد، مشخص گردید که محتوای پروتئین دانه با افزایش نیتروژن قابل دسترس گیاه افزایش می‌یابد (اصغر و همکاران، ۲۰۰۲).

مطابق شکل ۴-۳۶ بیش‌ترین درصد پروتئین دانه مربوط به تیمار کاربرد باکتری تیوباسیلوس به میزان ۱۷/۶۴ مشاهده شد. به طوری که درصد پروتئین دانه در دانه‌ی بوته‌های تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس ۰/۵۲ درصد بیش‌تر از عدم تلقیح (۱۷/۱۲ درصد) بود. تحقیقات نشان داده است که افزودن باکتری های اکسید کننده گوگرد باعث افزایش سریع در رشد و توسعه ریشه‌ها و هم‌چنین افزایش میزان درصد عملکرد دانه و پروتئین را به همراه داشته است (شایند و همکاران، ۲۰۰۴). کاربرد کودهای زیستی نیز می‌توانند باعث افزایش عملکرد پروتئین گردند. زیرا کودهای زیستی علاوه بر فراهم نمودن شرایط مناسب رشد و نمو برای گیاهان تثبیت زیستی نیتروژن را نیز انجام می‌دهند که منجر به افزایش توان گیاه در آسیمیلاسیون نیتروژن می‌گردد.

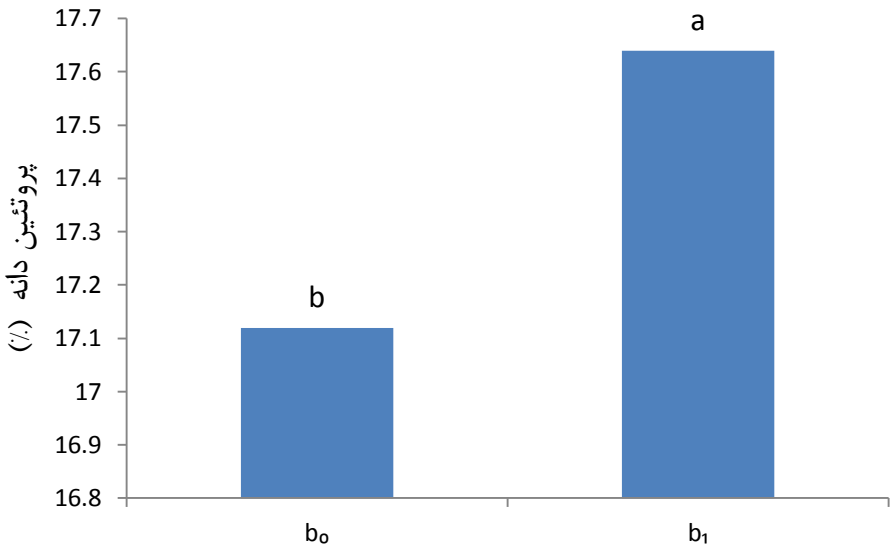


شکل ۴-۳۴: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر درصد پروتئین دانه (r.= شاهد یا عدم کاربرد، r۱= کاربرد)



شکل ۴- ۳۵: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد پروتئین دانه (m.= شاهد یا عدم تلقیح،

m۱=*G.mosseae*، m۲=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۳۶: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر پروتئین دانه (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

۴-۱۵- درصد نیتروژن دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس این صفت نشان داد که اثرات ساده باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر نیتروژن دانه نسبت به شاهد داشتند اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر درصد نیتروژن دانه نداشتند (جدول پیوست ۴-۳).

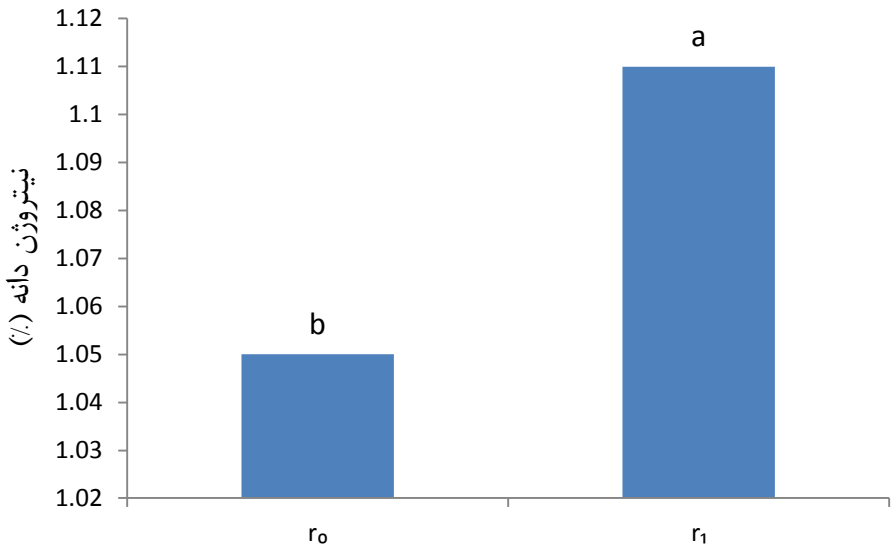
همان گونه که در شکل ۴-۳۷ مشاهده می‌شود کاربرد باکتری ریزوبیوم درصد نیتروژن دانه را از ۱/۰۵ در تیمار شاهد به ۱/۱۱ درصد در تیمار تلقیح افزایش داد به گونه ای که نیتروژن دانه حدود ۰/۰۶ درصد نسبت به عدم تلقیح افزایش نشان داد. ووکویک و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که با افزایش میزان نیتروژن در خاک محتوی کل نیتروژن در دانه گندم به طور معنی‌داری رو به افزایش گذاشت. قسمت اعظم نیتروژن تثبیت شده توسط مزوریزوبیوم در اختیار گیاه میزبان قرار گرفته و باعث افزایش غلظت نیتروژن به خصوص در شاخساره گیاه می شود (مارسچنر، ۱۹۹۵). یکی از راه-های افزایش نیتروژن استفاده از باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن به ویژه باکتری ریزوبیوم است. محققان ثابت کردند که توانایی حل فسفات در باکتری‌های ریزوبیومی مهم‌ترین مکانیزم تحریک رشد

گیاه در خاک‌های با حاصلخیزی متوسط تا زیاد می‌باشد. بنابراین باکتری‌های ریزوبیوم یک نقش دوگانه بسیار مهم در تامین دو عنصر حیاتی، نیتروژن و فسفر ایفا می‌کنند (کابوت، ۱۹۹۶). موجودات همزیست (باکتری و قارچ) توانایی بالایی برای افزایش نیتروژن، فسفر و پتاسیم و هم‌چنین دیگر مواد مغذی موجود در گیاهان تلقیح شده دارند (پاتریز و کاردیرو، ۲۰۰۴). در همزیستی نخود با باکتری مزوریزوبیوم، عملکرد گیاه، مقدار نیتروژن و وزن خشک گره، پس از تلقیح با میکروارگانیسم های تثبیت کننده نیتروژن، افزایش می‌یابد (کوتروباس و همکاران، ۲۰۰۹). والی و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی تاثیر مقادیر مختلف نیتروژن بر نخود بیان کردند که نیتروژن در مقادیر کم به عنوان استارتر، تاثیر مثبتی بر تثبیت بیولوژیکی نیتروژن دارد، ولی مقادیر بالای این عنصر سبب بازدارندگی در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و کاهش وزن خشک گره می شود. اقوتچو و همکاران (۲۰۰۸) نیز نتایج مشابهی گزارش کردند.

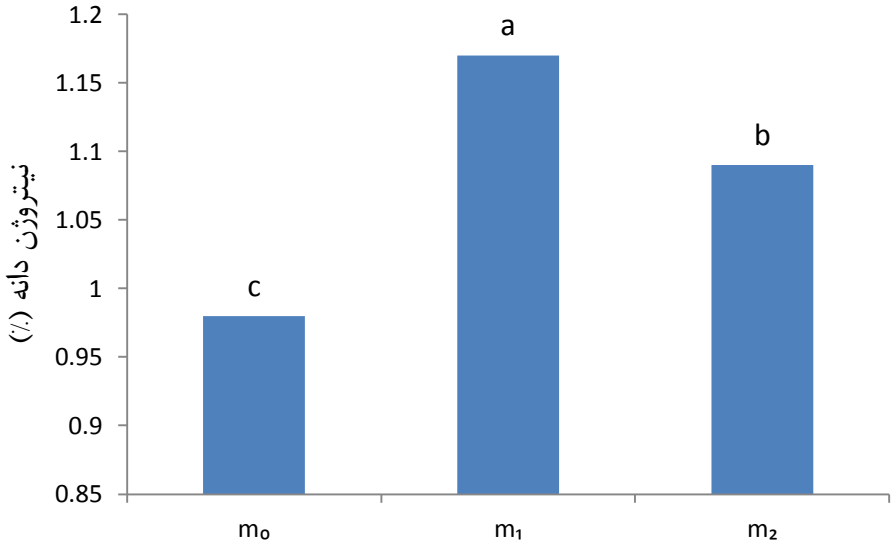
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین درصد نیتروژن دانه مربوط به گونه‌ی *G.mosseae* قارچ میکوریزا با ۱/۱۷ درصد بود که ۰/۱۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت و کم-ترین درصد نیتروژن مربوط به تیمار شاهد با ۰/۹۸ درصد بود. هم‌چنین گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا به میزان ۱/۰۹ درصد بود که ۰/۱۱ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (شکل ۴-۳۸). در تأیید تأثیر مثبت تلقیح بر عملکرد نخود، محققان در ساسکاچوان و ترکیه نشان دادند که با تلقیح ریزوبیومی، عملکرد دانه نخود به ترتیب در این دو مکان، ۳۶ و ۲۰ درصد افزایش یافت (کنتار و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج تحقیقات لانگ و همکاران (۲۰۰۳) و لستینجی و همکاران (۲۰۰۷) به ترتیب در گیاهان بارهنگ کاردی (*Plantago lanceolata*) پیاز (*Allium cepa*) و تریتیکاله علوفه‌ای (*Triticosecale sp.*) نیز حاکی از آن بود که همزیستی میکوریزایی موجب بهبود غلظت فسفر و نیتروژن در این گیاهان در مقایسه با شاهد می‌گردد. در همین زمینه (ایلباس و ساهین، ۲۰۰۵) نیز در پژوهش خود در سویا (*Glycine max*) مشاهده نمودند که تلقیح میکوریزایی، منجر به بهبود ارتفاع گیاه، وزن هزار دانه و غلظت فسفر و نیتروژن دانه گردید. در خاک‌های با محتوی

پایین مواد غذایی (شی و همکاران، ۲۰۱۳) تلقیح قارچ میکوریزای آرباسکولار در گیاهانی که با قارچ *G.etunicatum* و *G.intraradices* تلقیح شده‌اند موجب افزایش قابل توجهی در جذب مواد مغذی گیاهی و بیش‌تر عناصر مانند نیتروژن و فسفر و پتاسیم می‌شود. در مورد تاثیر میکوریزا بر نیتروژن دانه می‌توان به این نکته اشاره کرد که افزایش غلظت نیتروژن در دانه گیاه با افزایش تغذیه فسفری در ارتباط است (ایلباس و ساهین، ۲۰۰۵). از این رو تأثیر قارچ میکوریزا بر میزان نیتروژن دانه گیاه احتمالًا به طور غیر مستقیم از طریق بهبود وضعیت فسفر گیاه، که خود بر توسعه ریشه گیاه موثر است، ناشی می‌شود. در همین خصوص ایلباس و ساهین (۲۰۰۵) نیز در مطالعه‌ای بر گیاه سویا، شاهد بهبود محسوس غلظت نیتروژن دانه در تیمار حاوی تلقیح میکوریزایی بودند. قارچ میکوریزا با گسترش هیف‌های خود موجب افزایش جذب عناصری مانند روی، نیتروژن و فسفر می‌شود. نیتروژن متصل به ترکیبات آلی برای ساختن اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. نهایتا موجب افزایش درصد پروتئین و نیتروژن دانه می‌گردند.

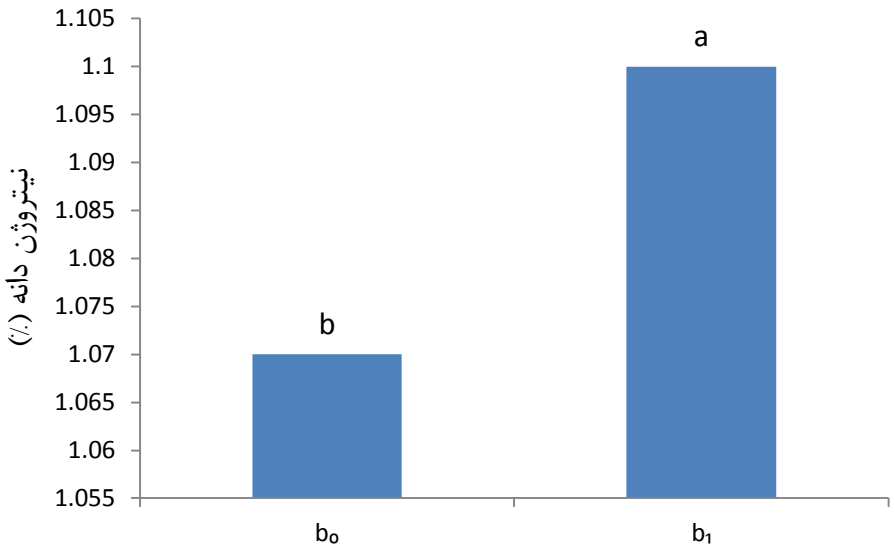
کاربرد باکتری تیوباسیلوس نیتروژن دانه را از ۱/۰۷ درصد در تیمار شاهد به ۱/۱ درصد در تیمار تلقیح با باکتری تیوباسیلوس افزایش داد و تیمار تلقیح نسبت به شاهد به میزان ۰/۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (شکل ۴-۳۹). بسیاری از پژوهشگران ضمن بررسی‌های خود تاثیر مثبت تلقیح باکتری‌های تیوباسیلوس بر افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی را گزارش کرده‌اند (بشارتی، ۱۹۹۸).



شکل ۴-۳۷: تاثیر کاربرد باکتری ریزوبیوم بر درصد نیتروژن دانه (r_0= شاهد یا عدم کاربرد، r_1= کاربرد)



شکل ۴- ۳۸: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد نیتروژن دانه (m_0= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)



شکل ۴- ۳۹: تاثیر کاربرد باکتری تیوباسیلوس بر درصد نیتروژن دانه (b_0= شاهد یا عدم کاربرد، b_1= کاربرد)

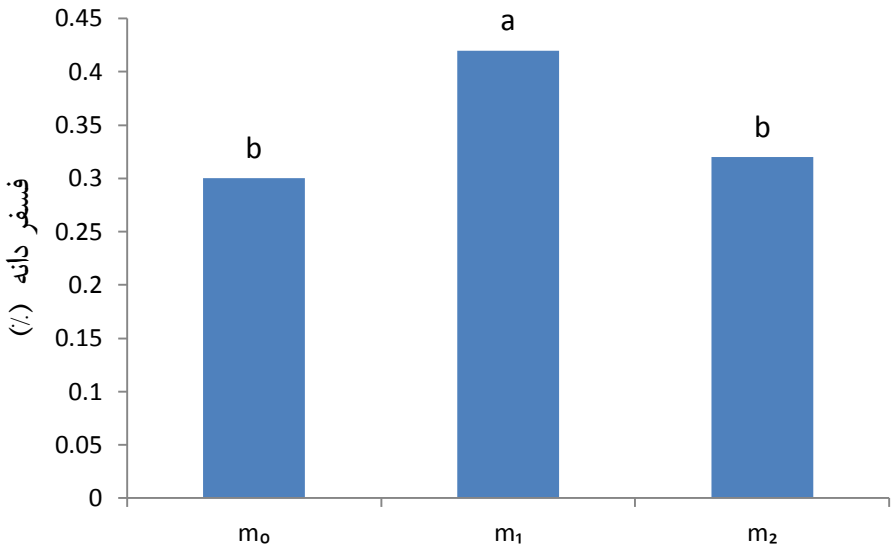
۴-۱۶- درصد فسفر دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس این صفت نشان داد که قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر درصد فسفر دانه نسبت به شاهد داشتند (جدول پیوست ۴-۳). اثرات اصلی باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس و هم‌چنین اثرات متقابل دوگانه و سه گانه عوامل مورد بررسی تاثیر معنی-داری بر درصد فسفر دانه نداشتند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین میزان فسفر در تیمار گونه *G.mosseae* قارچ میکوریزا به میزان۰/۴۲ درصد بود. که ۰/۱۲ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد (۰/۳) و ۰/۱ درصد بیش‌تر از گونه‌ی اینترادایسز بود و بین شاهد (عدم مصرف قارچ) و مصرف گونه‌ی *G.intraradices* قارچ میکوریزا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴- ۴۰). میکوریزا مهم‌ترین قارچ همزیست ریشه می-باشد. همزیستی این قارچ بیش‌تر به منظور جذب عناصر غذایی کم تحرک در خاک مثل فسفر صورت می‌گیرد (تانار و همکاران، ۲۰۱۱). گزارش شده قارچ‌های میکوریزی در افزایش جذب مواد معدنی به-ویژه فسفر و افزایش عملکرد بسیاری از محصولات در خاک‌های با فسفر کم، تاثیر مثبت دارند (تورک و همکاران، ۲۰۰۶). (شارما، ۲۰۰۴؛ قزالا، ۲۰۰۵) گزارش دادند که جذب مواد غذایی گیاهانی که با

قارچ میکوریزا تلقیح شدند بالاتر از موقعی بود که با گیاهان غیر میکوریزایی مقایسه شد. به نظر می-رسد نقش مفید میکوریزاها به ویژه در مورد جذب فسفر و عناصر ریزمغذی، مربوط به ناحیه ی تخلیه عناصر در اطراف ریشه می باشد و وسعت این ناحیه بستگی به حلالیت و قابل حرکت بودن عناصر در خاک دارد که در مورد نیتروژن زیاد و در مورد فسفر کم است و قارچ‌های میکوریزا با گسترش شبکه ریسه ای خود این محیط را افزایش می دهند (احمدی و همکاران، ۲۰۰۴؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۲). میکوریزا به دلیل میسیلیوم‌های قوی که دارد منطقه‌ی ریشه را گسترش می‌دهد در نتیجه موجب افزایش جذب مواد مغذی به‌ویژه فسفر می‌شود. میکوریزا از طریق بهبود گسترش هیف‌های قارچ در منافذ خاک، به طور فیزیکی موجب افزایش جذب فسفر در پیکره رویشی گیاه و انتقال آن به دانه گردیده موجب افزایش این عنصر در دانه آفتابگردان گردید (موهنتی و همکاران، ۲۰۰۶). کاپور و همکاران (۲۰۰۴) دریافتند که همزیستی میکوریزایی و متعاقب آن با افزایش وزن خشک گیاه سبب بهبود غلظت فسفر در دانه رازیانه شد. به‌نظر می‌رسد تلقیح میکوریزایی موجب گردیده که در مراحل رشدی گیاه به‌دلیل گسترش سیستم ریشه‌ای (جفریس و همکاران، ۲۰۰۳) عناصر کافی (از جمله فسفر که میکوریزا توانایی زیادی در جذب این عنصر غیر متحرک دارد) جذب شود و در نتیجه فتوسنتز گیاه طی مراحل پایانی رشد افزایش یابد و هم‌چنین فسفر کافی در گیاه ذخیره شده و در مرحله پرشدن دانه‌ها، به دانه‌ها منتقل و سبب افزایش غلظت فسفر در دانه گردد. کلین و زید بیان داشتند که فسفر نقش مهمی در فرآیند های گیاهی از جمله فتوسنتز، تنفس سلولی و رشد رویش و زایشی به عهده دارد و این عنصر در عمل تقسیم سلولی، توسعه ریشه و گل دهی بسیار موثراست . هم‌چنین سایر محققین نیز گزارش کردند که بهبود میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه منجر به افزایش رشد رویشی گیاه خواهد شد (عبدالناصر و همکاران، ۲۰۰۰). یکی از مکانیسم‌های جذب در قارچ‌های مایکوریزا آربسکولار وزیکولار به این شکل است که، قارچ‌های وزیکول آربسکولار میکوریزا، pH ریزوسفر را تغییر می‌دهند، به نحوی که دسترسی به برخی از عناصر غذایی تغییر می‌یابد به این ترتیب جذب عناصر افزایش می‌یابد (پاکوسکی، ۱۹۸۶). جذب بهتر عناصر غذایی منوط به وجود

سیستم ریشه ای گسترده است و همزیستی با قارچ‌های میکوریزا موجب بهبود سیستم ریشه ای، حاصلخیزی خاک و نهایتا جذب بهتر عناصر غذایی مورد نیاز برای گیاه شده است. هنگامی که میکوریزای VA تشکیل می‌شود، در مورفولوژی ریشه تغییراتی صورت گرفته و فیزیولوژی ریشه ها به طورقابل توجهی تغییر می کند (غلامی و کوچکی، ۱۳۸۰). قارچ‌های میکوریزا به‌دلیل افزایش سطح جذب ریشه از طریق تشکیل هیف، سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی به وسیله گیاهان می شوند. تخمین زده می‌شود که حدود ۸۰ درصد جذب فسفر گیاه به‌وسیله این قارچ‌ها صورت می‌گیرد (مارسچنر و دل، ۱۹۹۴). از کاربردهایی که برای فسفر گزارش شده تاثیر بر محتوی سایر مواد مغذی در برگ‌ها و بذرها است (ساین و همکاران، ۲۰۱۱). فسفر در ساختمان سلولی و در بسیاری از فعالیت‌های زیستی، از جمله ذخیره و انتقال انرژی شیمیایی دخالت دارد. فسفر باعث تسریع رشد و رسیدگی محصول شده و کیفیت بافت‌های سبزینه را افزایش می‌دهد. گیاهان جوان به فسفر قابل جذب در خاک واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند. به طور کلی، گیاهان جوان به فسفر بیش‌تری نسبت به گیاهان مسن نیاز دارند. به علاوه، گسترش ریشه در مراحل اولیه رشد محدودتر بوده و به فسفر قابل جذب بیش‌تری در منطقه‌ی رشدی نیاز است. گیاهان ظرفیت زیادی برای جذب و ذخیره فسفر دارند. ۵۰ درصد فسفر مورد نیاز گیاه در ۲۰ درصد رشد اولیه جذب می‌شود (خواجه پور، ۱۳۸۳).



شکل ۴- ۴۰: تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر درصد فسفر دانه (m.= شاهد یا عدم تلقیح، m_1=*G.mosseae*، m_2=*G.intraradices*)

نتایج

نتایج به دست آمده از این تحقیق به طور خلاصه شامل موارد زیر می‌باشد:

۱. باکتری ریزوبیوم باعث افزایش ارتفاع ساقه اصلی، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف ، وزن خشک غلاف، شاخص سطح برگ، وزن صد دانه، عملکرد دانه در هکتار، عملکرد بیولوژیک در هکتار، شاخص برداشت، کلونیزاسیون، شاخص کلروفیل، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، درصد پروتئین و نیتروژن دانه گردید.

۲. تلقیح با قارچ میکوریزا موجب افزایش ارتفاع ساقه اصلی، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن خشک غلاف، شاخص سطح برگ، وزن صد دانه، محتوی آب نسبی، عملکرد دانه در هکتار، عملکرد بیولوژیک در هکتار، کلونیزاسیون، شاخص کلروفیل، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، درصد پروتئین ، نیتروژن و فسفر دانه گردید.

۳. باکتری تیوباسیلوس باعث افزایش ارتفاع ساقه اصلی، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن خشک غلاف، شاخص سطح برگ، وزن صد دانه، عملکرد دانه در هکتار، عملکرد بیولوژیک در هکتار، کلونیزاسیون، شاخص کلروفیل، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، درصد پروتئین و نیتروژن دانه گردید.

۴. تلقیح توام باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزا موجب افزایش تعداد دانه درغلاف، وزن خشک غلاف، عملکرد دانه در هکتار، عملکرد بیولوژیک در هکتار، کلروفیل a، کاروتنوئید نسبت به عدم تلقیح دو میکروارگانیسم شد. هم‌چنین تلقیح توام قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس موجب افزایش وزن خشک غلاف نسبت به عدم تلقیح شد.

۵. استفاده از باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و باکتری تیوباسیلوس شاخص‌های رشد مانند عملکرد دانه در هکتار و وزن خشک غلاف را نسبت به شاهد افزایش دادند.

پیشنهادها

۱. انجام آزمایش و بررسی رابطه بین قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس در شرایط گلخانه‌ای

۲. بررسی اثرات متقابل سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس و قارچ‌های میکوریزا برای شناسایی بهترین ترکیب

۳. ایجاد انگیزه در کشاورزان برای استفاده از کودهای زیستی با ارایه‌ی آموزش‌های لازم به آن-ها.

۴. تشویق دولت برای استفاده از کودهای زیستی با اختصاص یارانه به این نهاده‌ها

پیوست ها

جدول پیوست ۴- ۱: جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در گیاه چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع ساقه اصلی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن خشک غلاف	شاخص سطح برگ
بلوک	۳	۳۹۴۱/۷۳۷	۴۹/۰۳۶	۱۷/۴۴۴	۸۶/۷۸	۲/۳۲۸
ریزوبیوم (R)	۱	۱۱۲۸۵/۰۲ **	۸۷/۹۶۷ **	۲۰/۰۳۴ **	۲۱۰/۵۴۸**	۴/۹۵۳**
میکوریزا (M)	۲	۴۴۴۵۴/۰۴ **	۲۹۵/۰۰۶ **	۶۲/۰۰۴ **	۴۹۱/۳۶۳**	۱۴/۲۲۱**
تیوباسیلوس (B)	۱	۴۷۳۳/۲۳۴ **	۳۹/۷۱۲ *	۶/۵۲۰ **	۹۴/۴۴4**	۱/۵۰۱**
M*R	۲	۳۵۲/۵۴۴ n.s	۵/۱۴۰n.s	۳/۶۱۲ **	۴۶/۴۱۵**	۰/۴۹۵n.s
M*B	۲	۵۹۱/۰۴۰ n.s	۴/۸۰۷ n.s	۱/۲۲۱ n.s	۳۲/۲۰۰*	۰/۰۳۷n.s
R*B	۱	۷۶/۶۸۴ n.s	۱/۲۱۶ n.s	۱/۴۶۰ n.s	۱۶/۰۸n.s	۰/۱۰۰n.s
M*R*B	۲	۵۶۳/۲۴۴ n.s	۳/۲۳۷ n.s	۰/۶۵۳ n.s	۳۰/۰۲*	۰/۰۵۲n.s
اشتباه آزمایشی	۳۳	۲۹۵/۱۴۶	۷/۱۷۰	۰/۶۰۱	۷/۴۹۷	۰/۱۷۲
ضریب تغییرات (درصد)		۹/۴۸	۲۹/۷۹	۱۰/۰۶	۲۶/۷۸	۱۹/۱۶

*، ** و n.s به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی داری می باشد.

جدول پیوست ۴-۲: جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در گیاه چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن صد دانه	محتوی آب نسبی	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک	شاخص برداشت	کلونیزاسیون
بلوک	۳	۲/۲۴۰	۱۰۱/۶۱۳	۰/۱۸۹	۱/۷۱۰	۴۰۸۴/۷۶۸	۳۳۶/۸۰
ریزوبیوم (R)	۱	۱۲/۲۴۱ **	۰/۰۲۰ n.s	۲/۴۲۱ **	۰/۹۴۷ **	۲۲۷۲/۶۰۲ *	۷۵۲/۰۸۳ **
میکوریزا (M)	۲	۳۸/۹۵۳ **	۴۴/۷۴۳ *	۴/۵۸۶ **	۴/۴۱۴ **	۸۰۵/۶۹۰ n.s	۳۷۱۷/۱۸۸ **
تیوباسیلوس (B)	۱	۵/۰۸۳ **	۷/۹۵۴ n.s	۰/۷۵۰ **	۰/۳۶۴ **	۴۲۰/۲۰۲ n.s	۳۵۲/۰۸۳ *
M*R	۲	۱/۰۳۲ n.s	۱۴/۳۵۲ n.s	۰/۶۷۴ **	۰/۱۲۱ *	۷۸۹/۸۷۴ n.s	۵۰/۵۲۱ n.s
M*B	۲	۰/۵۸۹ n.s	۱۶/۰۹۴ n.s	۰/۲۸۸ n.s	۰/۰۴۰ n.s	۲۸۳/۸۵۱ n.s	۵۰/۵۲۱ n.s
R*B	۱	۰/۲۲۷ n.s	۹/۲۷۵ n.s	۰/۲۵۲ n.s	۰/۰۲۲ n.s	۲۹۱/۰۶۷ n.s	۲/۰۸۳ n.s
M*R*B	۲	۰/۸۴۵ n.s	۲۸/۲۸ n.s	۰/۳۴۹ *	۰/۰۵۱ n.s	۵۱۰/۲۲۳ n.s	۵۶/۷۷۱ n.s
اشتباه آزمایشی	۳۳	۰/۵۳۱	۱۲/۹۰	۰/۱۰۸	۰/۰۳۵	۴۲۶/۳۷۶	۵۹/۵۳۳
ضریب تغییرات (درصد)		۳/۷۱	۴/۸۴	۲۵/۴۲	۱۲/۴۴	۲۳/۵۶	۱۲/۲۲

*، ** و n.s به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی داری می باشد.

جدول پیوست ۴-۳: جدول تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در گیاه لوبیا چشم بلبلی تحت تاثیر قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس

منابع تغییرات	درجه آزادی	شاخص کلروفیل	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	کروفیل کل	پروتئین	نیتروژن	فسفر
بلوک	۳	۵۶/۰۳	۰/۳۸۳	۰/۲۹۹	۹۰۷/۵۷	۰/۶۹	۸/۹۵	۰/۰۳۵	۰/۰۹۷
ریزوبیوم (R)	۱	۹۳۷/۸۳۶ **	۲/۲۵۳**	۰/۴۳۵ **	۲۵۷۸/۱۰۸ **	۴/۶۶۷ **	۸/۷۲۱ **	۰/۰۳۴**	۰/۰۰۲n.s
میکوریزا (M)	۲	۴۸۰۰/۵۷۲ **	۷/۹۴۹ **	۱/۰۶۹ **	۷۲۲۳/۸۵۰ **	۱۴/۸۳۴ **	۳۶/۲۰۷ **	۰/۱۴۱**	۰/۰۶۲**
تیوباسیلوس (B)	۱	۲۳۴/۰۳۹ **	۱/۰۱۵ **	۰/۱۹۹ **	۹۲۴/۳۵۸ **	۲/۱۱۱ **	۳/۳۳۹ **	۰/۰۱۳**	۰/۰۰۴n.s
M*R	۲	۱۶/۰۵۷ n.s	۰/۲۹۱ *	۰/۰۱۴ n.s	۴۱۷/۰۵۵ *	۰/۳۷۴ n.s	۰/۴۷۷ n.s	۰/۰۰۲n.s	۰/۰۰۳n.s
M*B	۲	۰/۷۱۴ n.s	۰/۱۳۳ n.s	۰/۰۱۴ n.s	۵۸/۶۰۳ n.s	۰/۱۷۶ n.s	۰/۰۳۲ n.s	۰/۰۰۱n.s	۰/۰۱۳n.s
R*B	۱	۰/۵۸۷ n.s	۰/۰۷۸ n.s	۰/۰۰۴ n.s	۰/۰۰۲ n.s	۰/۰۴۶ n.s	۰/۱۳۴ n.s	۰/۰۰۱n.s	۰/۰۰۸n.s
M*R*B	۲	۰/۸۰۵ n.s	۰/۱۷۵ n.s	۰/۰۴۹ n.s	۱۲۹/۴۲۱ n.s	۰/۳۹۳ n.s	۰/۱۲۹ n.s	۰/۰۰۱n.s	۰/۰۰۹n.s
اشتباه آزمایشی	۳۳	۱۶/۰۷۸	۰/۰۷۹	۰/۰۱۷	۱۱۳/۷۶۸	۰/۱۴۴	۰/۳۱۷	۰/۰۱	۰/۰۰۶
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۳۶	۶/۸۷	۱۰/۴۶	۷/۴۵	۷/۱۱	۳/۲۴	۳/۲۴	۲۱/۳۸

*،** و n.s به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی داری می باشد

جدول پیوست ۴-۴: جدول مقایسه میانگین اثرات ساده قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و تیوباسیلوس بر رشد و عملکرد لوبیا چشم بلبلی

صفات / تیمار	تعداد دانه در غلاف	وزن خشک غلاف	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک	کلروفیل a	کاروتنوئید
		گرم در بوته	تن در هکتار	تن در هکتار	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ
قارچ میکوریزا						
شاهد	۵/۶۰c	۵/۰۱c	۰/۸۲c	۱/۱c	۳/۴۲c	۱۲۱/۵c
G.mosseae	۹/۴۹a	۱۶/۰۴a	۱/۸۷a	۲/۰۵a	۴/۸۳a	۱۶۳/۹a
G.intraradices	۸/۰۳b	۹/۶۱b	۱/۱۸b	۱/۴۳b	۴/۰۴b	۱۴۴/۲b
باکتری ریزوبیوم						
عدم تلقیح	۷/۰۶b	۸/۱۲b	۱/۰۶b	۱/۳۶b	۳/۸۸b	۱۳۵/۸۷b
تلقیح	۸/۳۵a	۱۲/۳۱a	۱/۵۱a	۱/۶۴a	۴/۳۱a	۱۵۰/۵۳a
باکتری تیوباسیلوس						
تلقیح	۷/۳۴b	۸/۸۲b	۱/۱۶b	۱/۴۱b	۳/۹۵b	۱۳۸/۸۱b
عدم تلقیح	۸/۰۸a	۱۱/۶۲a	۱/۴۱a	۱/۵۸a	۴/۲۴a	۱۴۷/۵۹a

وجود یک حرف مشترک نشان دهنده ی عدم وجود اختلاف معنی داری می باشد.

شکل پیوست ۱- نقشه کاشت آزمایش:

تیمارها شامل قارچ میکوریزا (M: (m.، m_1 و m_2)) به ترتیب شامل عدم تلقیح با قارچ میکوریزا، تلقیح با گونه *G.mosseae* و تلقیح با گونه *G.intraradices*)، باکتری ریزوبیوم (R: (r.، r_1)) به ترتیب شامل عدم مصرف باکتری و مصرف باکتری ریزوبیوم) و باکتری تیوباسیلوس (B: (b.، b_1)) به ترتیب شامل عدم مصرف باکتری و مصرف باکتری تیوباسیلوس).

m.b.r.	m.b_1r.	$m_1b_1r_1$	$m_2b_1r_1$	m_1b_1r.	m_2b_1r.	m_2b.r_1	m.b_1r_1	m.b.r_1	m_2b.r.	m_1b.r_1	m_1b.r.

$m_2b_1r_1$	m_1b.r_1	m_2b.r_1	m.b_1r.	m.b.r_1	$m_1b_1r_1$	m_2b_1r.	m_1b.r.	m_1b_1r.	m.b.r.	m_2b.r.	m.b_1r_1

m.b_1r.	m_2b.r_1	m.b.r_1	$m_1b_1r_1$	m_2b_1r.	m_2b.r.	m_1b.r.	m.b.r.	m.b_1r_1	$m_2b_1r_1$	m_1b_1r.	m_1b.r_1

$m_1b_1r_1$	m_1b.r.	m_1b.r_1	m.b.r_1	m.b.r.	m.b_1r.	$m_2b_1r_1$	m_2b_1r.	m_2b.r.	m_2b.r_1	m.b_1r_1	m_1b_1r.

منابع

منابع

ارادتمند اصلی، د. و مهرپناه، ح. ۱۳۸۸. " زراعت حبوبات و تثبیت نیتروژن". انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی ساوه. ۲۸۹ ص.

آستارایی، ع. و کوچکی، ع. ۱۳۷۵. کاربرد کودهای بیولوژیک در کشاورزی پایدار (مولف: ان- اس- سوریارائو). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

اسدی رحمانی، ه.، علیرضا فلاح نصرت آباد (۱۳۸۰). تولید و ترویج کودهای بیولوژیک محرک رشد گیاه. مجله علوم خاک و آب، جلد ۱۲، ویژه نامه بیولوژی خاک، ۱۰۵-۹۷.

اسدی رحمانی ه . و افشاری م . ۱۳۸۴ . کاهش مصرف کودهای از ته از طریق افزایش تثبیت بیولوژیک ازت در اراضی تحت کشت لوبیا . گزارش نهایی، تهران

امام، ۱۳۸۳. کمالی سروستانی، و امام، آمنه و یحیی (۱۳۸۳). زراعت غلات. شیراز. انتشارات دانشگاه شیراز.

امانی، ف.، پیرولی بیرانوند، ن. غ. و موسوی شلمانی، م. ا.، ۱۳۸۶. رشد و عملکرد دو رقم سویا در سطوح مختلف گوگرد تحت شرایط گل خانه‌ای. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران. ۴۳۷-۴۳۶.

امتیازی، گ. ۱۳۸۶. میکروبیولوژی خاک. انتشارات مانی، صفحه ۱۰۷-۷۹.

باقری، ع.، ا، نظامی.، ع، گنجعلی و م، پارسا .۱۳۷۶ . زراعت و اصلاح نخود(ترجمه) .انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

باقری، ع. و پارسا، م.، ۱۳۸۷. "حبوبات" چاپ دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۲۲ صفحه.

برین م، علی اصغرزاده ن و صمدی ع، (۱۳۸۴). " اثر تلقیح با قارچ‌های میکوریزا در خزانه بر خصوصیات رشدی و تغذیه ای گوجه فرنگی" **مجموعه مقالات نهمین کنگره علوم خاک ایران**. جلد ۲. صفحات ۵۵ تا ۵۷.

بشارتی کلایه ح. ۱۳۷۷. بررسی اثرات کاربرد گوگرد همراه با گونه های تیوباسیلوس در افزایش جذب برخی از عناصر در خاک. پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

بشارتی، حسین و ناهید صالح راستین .۱۳۸۰ . بررسی تاثیر کاربرد مایه تلقیح باکتر یهای تیوباسیلوس همراه با گوگرد در
افزایش قابلیت جذب فسفر، مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور موسسه تحقیقات خاک و آب. صفحه ۳۱۷-۲۹۳.

بی نام، (۱۳۸۲). " طرح جامع تولید، صادرات و واردات کودهای شیمیایی و بیولوژیک در دهه ۸۰" موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران.

پاک مهر، آ.، راستگو، م.، شکاری، ف.، صبا، ج.، وظایفی، م. و زنگانی. ا. ۱۳۹۰. تاثیر پرایمینگ سالیسلیک اسید بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه لوبیا چشم بلبلی تحت تنش کم آبی در مرحله زایشی. نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران. جلد ۲، شماره ۱: ۵۳-۶۴.

پندی، اردکانی، م.، ملکی، غ.، ۱۳۸۱. اصول مقدماتی کشت لوبیا: (چشم بلبلی)، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

جامی الاحمدی م، کامکار ب و مهدوی دامغانی ع ا، (۱۳۸۵). " کشاورزی، کود و محیط زیست" (ترجمه). چاپ اول. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۳۷۲ ص.

جهان، م. نصیری محلاتی، م. ۱۳۹۱. " حاصلخیزی خاک و کودهای بیولوژیک و رهیافتی اگرواکولوژیک" (ترجمه). چاپ اول. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۵۰ ص.

حمیدی، ا، ا، قلاوند، م. دهقان شعار، م. ج. ملکوتی، ا، اصغرزاده، و ر. چوگان (۱۳۸۴). اثرات باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر عملکرد ذرت علوفه‌ای. پژوهش و سازندگی، ۷۰: ۲۲-۱۶.

خاوازی، ک. و ملکوتی، م. ج. (۱۳۸۰). ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. موسسه تحقیقات خاک و آب تهران. ایران. ۶۰۴ صفحه.

خواجه پور، م. ۱۳۸۳. گیاهان صنعتی. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان. ۵۷۱ صفحه.

خوفی، م. و انویه تکیه، ل. ۱۳۸۸. بازار جهانی حبوبات و جایگاه ایران در تجارت خارجی محصول. شماره ۳۴: ۲۸-۳۸. درزی، م والف، قالوند وف، رجالی. ۱۳۸۸. تاثیر مصرف کودهای بیولوژیک بر روی جذب عناصر N,P,K و عملکرد دانه در گیاه دارویی رازیانه)*Foeniculum Vulgare Mill*(فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۵- شماره ۵- صفحه ۱۹-۱.

رحیمیان، ح. و بنایان، م.(۱۳۷۵). مبانی فیزیولوژیکی اصلاح نباتات (ترجمه)، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

رضایی، ع. ر. و کامکار حقیقی، ع. ا. ۱۳۸۸. اثر تنش رطوبتی در مراحل مختلف رشد بر عملکرد گیاه لوبیا چشم بلبلی. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب). جلد ۲۳، شماره ۱: ۱۱۸-۱۲۴.

صادقی پور، ا.، غفاری خلیق، ح .و منعم، ر .۱۳۸۴ . تاثیر تراکم بوته بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام رشد محدود و رشد نا محدود لوبیا قرمز، مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۱۱(۱)، ۱۴۹- ۱۵۹.

صالح راستین، ن. (۱۳۸۰). کودهای بیولوژیک و نقش آن‌ها در راستای نیل به کشاورزی پایدار. مجله علوم و خاک و آب، ویژه نامه کودهای بیولوژیک.

علیزاده، ا.، و آریانا، ل. ۱۳۸۸. بهینه سازی مصرف نیتروژن و فسفر در زراعت پایدار ذرت با استفاده از میکوریزا و ورمی کمپوست یافته های نوین کشاورزی. سال ۲. شماره ۳: ۳۰۳-۳۱۶.

غلامی، ا . و کوچکی، ع .۱۳۸۰ . میکوریزا در کشاورزی پایدار(ترجمه). انتشارات دانشگاه شاهرود، ۲۱۲ صفحه.

غلامی، احمد و آنتا بیاری (۱۳۸۶). بررسی تاثیر پرایمینگ بذر توسط سویه های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به خصوصیات رشد، عملکرد و اجزای عملکرد ذرت. دومین همایش ملی کشاورزی بوم شناختی ایران. ۲۵-۲۶ مهر ماه. گرگان. دانشگاه گرگان. ۳۴۹-۳۳۸.

غیبی، م. ن. و م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۳. راهنمایی تغذیه بهینه گندم. چاپ اول، انتشارات نشر آموزش کشاورزی، کرج، ۱۱۹ صفحه.

فرخ بخت. ع.، لرزاده. ش. و خدارحمپور. ز. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر مدیریت تلفیقی علفهای هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم بلبلی در شرایط شمال خوزستان. فصلنامه علمی پژوهشی، علوم به زراعی گیاهی. ۲ (۶): ۱-۱۲.

قاسمی پیربلوطی ع الف، دادی ا ا، اکبری غ ع و گل پرور ا ر، (۱۳۸۳). " تاثیر تلقیح ارقام لوبیا با باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم بیوار فازئولی (*R. leguminosarum biovar phaseoli*) بر عملکرد دانه و تثبیت نیتروژن در منطقه شهر کرد " **پژوهش‌های زراعی ایران.** ۲ (۱). صفحات ۵۵ تا۶۵.

قربانی، ه. ۱۳۸۶. مروری بر کودهای بیولوژیک در ایران و نقش آن‌ها در حفظ محیط زیست و سلامت جامعه. خلاصه مقالات دومین همایش ملی کشاورزی بوم شناختی ایران. گرگان. ۱۶ تا ۲۲ مهر.

کاظمی پشت مساری ح، پیردشتی ه الف و بهمنیار م ح. ۱۳۸۶. مقایسه اثرات کودهای فسفره معدنی و زیستی بر ویژگی‌های زراعی دو رقم باقلا. فصلنامه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، جلد ۱۴، شماره ۶. ص ۳۲-۲۱.

کریمی، ه. ۱۳۷۵. گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه تهران، ۷۱۴ صفحه.

کوچکی، ع. و بنایان اول، م.، ۱۳۷۲. زراعت حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۳۶ صفحه.

کوچکی، ع. و سرمدنیا، غ. ح. ۱۳۸۴. فیزیولوژی گیاهان زراعی. (مولف: فرانکلین پی. گاردنر، آر. برنت پی پرس، راجر ال، میشل). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۴۰۰صفحه.

کوچکی، ع.، زند، الف.، جامی الاحمدی، م.، وصال، س. ۱۳۸۸. اکوفیزیولوژی گیاهی. (لمبرز- چاچین- پوتز). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. شماره ۴۲۸.

گودوراج، ه.، صادقی پور، ا.، ۱۳۸۰. علم تولید گیاهان زراعی، انتشارات پزشکیان نژاد و پسران.

مجنون حسینی، ن.، ۱۳۸۳. "حبوبات در ایران". انتشارات جهاد دانشگاهی شعبه واحد تهران، ۲۴۰ صفحه.

مجنون حسینی، ن. ۱۳۸۷. " زراعت و تولید حبوبات"، چاپ چهارم. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران. ص ۲۷۳.

مرشدی، ع. (۱۳۸۲). مروری بر تولید و مصرف جهانی کود. مجله نهاده ۷: صفحه ۲۶-۲۲.

ملکوتی م ج، (۱۳۸۴). " کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران" نشر سنا. ص ۴۹۶.

ناظری پ، کاشانی ع، خاوازی ک، اردکانی م ر، میرآخوری م و پورسیاه بیدی م م، (۱۳۸۹). " واکنش لوبیا سفید (*Phaseolus vulgaris* L.) به تلقیح با ریزوبیوم و کاربرد نواری کود زیستی فسفر گرانوله حاوی روی" نشریه بوم شناسی کشاورزی. جلد ۲. شماره ۱. صفحات ۱۷۵ تا ۱۸۵.

نور قلی‌پور، ف.، خاوازی، ک.، بشارتی، ح. و فلاح، ع.، ۱۳۸۵. بررسی تاثیر کاربرد خاک فسفات، گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر عملکرد کمی و کیفی سویا و اثرات باقی مانده آن بر ذرت. مجله علوم خاک و آب، جلد ۲۰، شماره ۱: ۱۳۱-۱۲۲.

یادگاری، م. و برزگر، ر.، ۱۳۸۶. "زراعت ارگانیک لوبیا" انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی شهر کرد، ۱۶۸ صفحه.

یوسفی راد. م.ف نورمحمدیف ق.، اردکانی. م. ر.، مجیدی هروان، ا. و میرهادی، س. ج. ۱۳۸۸. تاثیر قارچ میکوریزا بر خصوصیات مورفولوژیک و محتوای عناصر غذایی جو در سطوح مختلف شوری. مجله دانش نوین کشاورزی. سال پنجم. شماره ۱۶: ۱۰۵-۱۱۴.

Abbott. L. K. and A. D. Robson (1991). *Field management of mycorrhizal fungi in: The rhizosphere and plant growth. D. L. keister and P. B. cregan (eds).* Kluwer Academic Publisher Dordecht The Netherlands. Pp. 355-362.

Abdel-Magid. H. M., S. I. Abdel-Aal., R. K. Rabie., R. E. A. Sabrah (1995). *Chicken manure as a biofertilizer for wheat in the sandy soils of Saudi Arabia.* J. Arid Environ. 29: 413-420.

Abdel-Nasser G., Harhash M.M., and EL-Shazly S.M. 2000 .Response of some Olive cultivars grown in Siwa Oasis to well water quality. Journal of Agriculture Science. Mansura Univ., 25(5):2877-2896.

Ahmad, F., Ahmad, I. and Khan, M. S. (2006), " Screening of free- livig rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities", Microbiological Research. www. Elsevier. De/ micres. Pp: 4-8.

Ahmadi, A., Ehsanzadeh, P. and Jabbari, F. 2004. An Introduction to Plant Physiology (translated). The first volume. Tehran University Press.

A. Hussain, A. Ali and I. R. Noorka, "Effect of Phosphorus with and without Rhizobium Inoculation in Nitrogen and Phosphorus Concentration and Uptake by Mungbean (*Vigna radiata* L)," *Journal of Agricultural Research*, Vol. 50, No. 1, 2012, pp. 49-57.**Albayrak, S., C. S.**

Albayrak, S., C. S. Sevimay, and O. Tongel. 2006. Effect of inoculation with rhizobium on seed yield and yield components of common vetch (*Vicia sativa* L.). Turkish Journal of Agricultural Forestry. 30: 31-37.

Akhtar, S., and Siddiqui, Z. 2008. Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intarradics Rhizobium* sp. and *Pseudomonas straita*. Crop Protection 27: 410-417.

Ali, M. E., Khanam, D., Bhuiyan, M. A. H., Khatuni, M. R. and Talukder, M. R. 2008. effect of Rhizobium Inoculation to different varieties of Garden Pea *(Pisum sativum L.*).

AL-Karaki GN and AL- Raddad A, 1997. Effects of arbuscular mycorrhiza fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance.Mycorrhiza 7: 83-88.

Allen MF (1991). The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Arumugam, R., Rajasekaran, S., Nagarajan, S. M. (2010), "Response of Arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* inoculation on growth and chlorophyll content of *Vigna unguiculata* (L). Walp Var. Pusa 151" , **J. Appl. Sci. Environ. Manage**. 14(4): 113-115.

Asadi Rahmani, H., M. Afshari, K. Khavazi, F. Nourgholipour and A. Otad. 2005. Effects of common bean nodulating *Rhizobia* native to Iranian soils on the yield and quality of bean. Soil Water Sci. 19: 215-223. (In Persian with English abstract).

Aseri, G.K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A.V., Meghwal, P.R., 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (Punica granatum L.) in Indian Thar Desert. Sci. Hortic. 117, 130-135.

Asghar, H.N. Zahir, Z.A. Arshad, M. and Khaliq, A. 2002. Relationship between invitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in Brassica Juncea L. Biology and Fertility of Soil. 35: 231-237.

Auge,R. M., Moore,J. L., Sylvia,D.M., Cho,K. (2004). Mycorrhizal promotion of host stomatal conductance in relation to irradiance and temperature. *Mycorrhiza*, 14, 85-92.

Azaizeh HA, Marschner H, Romheld V and Wittenmayer L, 1995. Effects of vesiculararbuscular mycorrhiza fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. Mycorrhiza 5(5): 321-327.

Azcon, R. and Barea, J.M. 1998. Mycorrhizal dependency of a representative plant species in Mediterranean shrublands (Lavandula spica L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification-threatened areas. Applied Soil Ecology. 6(3): 217-222.

Bashan, Y. Holguin, G. de-Bashan, L.E. *Can.J. Microbial*, 2004. 50, 521-577.

Besharati, H. 1998. Effect of Sulphur and Thiobacillus Species on increase of absorption of Some Elements in Soil. M.Sc. Thesis of Soil Science in Agriculture Faculty, Tehran University, Pp: 98-147. (In Persian)

Bhat, M. I., Bangroo, S. A., Tahir, A., Yadav, S. R. S., and Aziz, M. A. (2011), " Combined Effects of Rhizobium and Vesicular Arbuscular fungi on green gram (*Vigna radiate L. Wilczek*) under temperate conditions" , **J. Agr. Sci.** 2(1): 17-20.

Bian, X., Hu, L., Li, X., Zhang, F., 2001. Effect of VA mycorrhiza on the turfgrass quality and mineral nutrient uptakes. Acta Prataculturae Sinica 10, 42–46.

Bianciotto, V., Andreotti, S., Balestrini, R., Bonfante, P. and Perotto, S. (2001)." Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures" , **Eur. J. Histochem**. 45: 39-49.

Biswas, J. C., Ladha, J. K., Dazzo, F. B., Yanni, Y. G. (2000). " *Rhizobial* inoculation influences seedling vigor and yield of rice", **Agronomy Journal**, 92: 880-886.
Boddey, R. M and J. D.bereiner (1988). *Nitrogen fixation association with grasses and cereals: Recent results and perspective for future research.* Plant and Soil. 108: 53-65.
Bohlool, B. B., Ladha, J. K., Garrity, D. P. and George, T. (1992). " Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture : A Perspective" , **Plant and soil**, 141: 11-1.

Bolanos-Vasquez, M.C., and Werner, D. 1997. Effect of *Rhizobium tropici*, *R. etli*, and *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* on nod geneinducing flavonoids in root exudates of *Phaseolus vulgaris*. Mol. Plant–Microbe Interact. **10**: 339–346.
Brown, L. 1997. Facing the prospect of food scarcity. In: state of the World. Strake, L. (Ed.). W. W. Norton & Co. New York, pp. 23-41.

Canbolat, M.Y., Bilen, S., Cakmakci, R., Sahin, F., Aydin, A., 2006. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. Biol. Fertil. Soils 42, 350–357.
Chabot, R. (1996). Growth promotion of maize and lettuce by P solubilizing *R. l.* biovar. *Phaseoli*. J. Plant and Soil. 184: 311-321.
Chebotar VK, Asis CA, Akao S. *Biology and Fertility of Soils*, 2001. 34, 427–432.

Clark, R.B., and Zeto, S.K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. J. Plant Nut. 23: 867-902.
Clark, L. J.; Gowing, D. J. G.; Lark, R. M.; Leedsharrison, P. B.; Miller, A. J.; Wells, D. M.; Whalley, W. R.; Whitmore, A. P. Sensing the physical and nutritional status of the root environment in the field: a review of progress and opportunities. **The Journal of Agricultural Science**, v. 143, n. 5, p. 347-358, 2005.

Datta K, Dayal J ,1991. Studies ongermination and early seedling growth of gram (Cicerarietinuml) as affected by salinity. New trends in plant physiology.273-276.
Dawood, F., Al-Omagri, S. M. and St Murtatha, N. 1985. High levels of Sulphur affecting availability of some micronutrients in calcareous soils. Proceedings Section, Regional Conference on Sulphur and Its Usage in Arab Countries. Riyadh. 2-5 March 1985. Saudi Arabia, pp 55-68.
Demir, S., 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turk. J. Biol. 28, 85–90.
Diego, M., Gerhard, F. and Christian, U. 2011. The influence of Arbuscular mycorrhizal colonization on the growth parameters of cape gooseberry (*Physalis peruviana*) Plants grown in a saline Soil. J. soil Sci. Plant nutr. 11(2): 18-30 (2011).
Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Vande Broek, A., and Vanderleyden, J. *Plant Soil*, **1999**, 155-164.

Egamberdiyera, D., 2007. The effect of plant growth and nutrient uptake of maize in two different Soils. Appl. Soil Ecol. 36, 184–189.

Ehlers, J.D., and A.E. Hall. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Field Crops Res. 53: 187–204.
E.I. Newman and P. Reddel, The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. New Phytol., 106 (1987) 745-751.

Elizabeth M., Duffy, A. and Cassele C. 2000. The effect of inoculation of potato microplant with arbuscular mycorrhizal fungi on tuber yield and tuber size distribution, Applied Soil Ecology, 15: 137-144.
Elkoca, E., F. Kantar and F. fiahin. 2008. Influence of Nitrogen Fixing and Phosphorus Solubilizing Bacteria on the Nodulation, Plant Growth, and Yield of Chickpea. Journal of Plant Nutrition. 31: 157-171.

Elsen,T. V. (2000). Species diversity as a task for organic agriculture in Europe. *Agriculture, Ecosystems and Environment*,77, 101-109.

Elsheikh, E. A. E. and Elzidany, A. A. (1997), " Effect of Rhizobium inoculation, organic and chemical fertilizers on yield physical properties of faba bean seeds" , **Plant Foods Human Nutrition** 51: 137-144.

EL Tarbily, K. A.; Soaud, A. A.; Saleh, M. E.; Matsumoto, S. Isolation and characterization of sulfuroxidizing bacteria, including strains of *Rhizobium* from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (*Zea mays* L.). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 57, n. 1, p. 101-111, 2006.

Fallah, A., Besharati, H., and Khosravi, H. 2010. Soil Microbiology. Ayizh puplications: Tehran, Iran. Second Edition, 136p. (Translated in Persian)
Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.L., Tian, C.Y., Tang, C., Rengel, Z., 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza 12, 185–190.
Flavio, H., Gutierrez, B., Prystupa, P. and Gustavo, F. 2007. Seed number and yield determination in sulfur deficient soybean crops. J. of Plant Nutri. 30:1, 93-104.
FNCA (Forum for Nuclear Cooperation in Asia). 2006. Biofertilizer Manual. Japan Atomic Industrial Forum (JAIF). Biofertilizer Project Group. 138P.
Foroughifar, H. and M. E. Poor Kasmani. 2002. Soil Science and Management. Ferdowsi University of Mashhad Press. (In Persian).

Fransis, D. and Piekielek, D. 2000. Assesing crop nitrogen needs with chlorophyll meters. The Site-Specific Management Guidelines Series. Potas and Phosphate Institute (PPI). Coordinated by South Dakota State University (SDSU).
GARCIA JÚNIOR, O. (1992) O enxofre e suas transformações microbianas. In: Cardoso, E.J.B., Tsai, S.M. and Neves, M.C.P. (eds) *Microbiologia do solo*. pp. 319–329.

Ghazala N (2005). Role of symbiotic soil fungi in controlling roadside erosion and in the establishment of plant communities.
Ghorbanian, D., S. Harutyunyan, D. Mazaheri, V. Rasoli and A. Mohebi. 2012. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and different levels of phosphorus on the growth of corn in water stress conditions. African Journal of Agricultural Research. *7(16). 2575-2580*
Giami, S., 2005. Influence of cowpea (*Vigna unguiculata* L Walp) variety on protein quality and sensory properties of akara, a popular West African cowpea-based food. Journal of Science and Food Agriculture, 85: 261-264.

Giller KE, Cadisch G (1995). Future benefits from biological nitrogen fixation- an ecological approach to agriculture. Plant. Soil 174: 255-277.

Gomez, J. M., Cantero, D. & Webb, C. 2000. Immobilization of *Thiobacillus ferrooxidans* cells on nickel alloy fiber for ferrous sulfate oxidation. *Journal Applied Microbiology Biotechnology*, 54: 335-340.

Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., and Bending, G. D. 2006. Arbuscular mycorrhiza fungi and organic farming. Agriculture, Ecosystems and Environment, 113: 17-35.

Graham PH (1981). Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: a reviw. Field. Crops. Res. 4: 93-112.

Gravito ME and Varda L, 1995. Resporse of "Criollo" maize to single and mixed species

inocula of arbuscular mycorrhiza fungi. Plant Soil 176(1): 101-105.

Gupta, M. L., A. Prasad, M. Ram and S. kumar. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasiculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (Mentha arvensis) under field conditions. Bioresource Technol. 81: 77-79.

Haggag, W.M., 2002. Sustainable agricultural management of plant diseases. J. Biol. Sci. 2, 280–284.

Haile, T., Nakhla, G., 2009. Inhibition of microbial concrete corrosion by Acidithiobacillus thiooxidans with functionalised zeolite-A coating. Biofouling 25, 1e12.

Hashemi-Dezfooli, A. Koochaki, A. and Banayane-Aval, M. 1996. Maximizing Crops Yield. Mashhad Jehad Daneshgahi Press. Second Edition. 287 pp. (Translated in Persian)

Hayman DS, 1983. The physiology of vesicular- arbuscular endomycorrhiza symbiosis. Can J Bot 61: 944 - 963.

Herzog. F., V. Prasuhn., E. Spiess., W. Richner (2008). *Environmental cross-compliance mitigates nitrogen and phosphorus pollution from Swiss agriculture.* Environmental Science & Policy, 11: 655- 668.

Hitsuda, K., Yamada, M., Klepker, D., 2005. Sulfur requirement of eight crops at early stages of growth. Agron. J. 97, 155–159.

Ilbas, A.I. and Sahin, S. 2005. Glomus fasiculatum inoculation improves soybean production. Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science. 55(4): 287-292.

Ileana, V., Rodolfo, G. and Mendoza, E. (2007). Arbuscular mycorrhizal fungi and plant
symbiosis in a saline-sodic soil. Mycorrihza 17: 167-174.

Jaggi, R. C., Aulakh, M. S. and Sharma, R. 2005. Impacts of elemental S applied under various temperature and moisture regions on pH and available P in acidic, neutral and alkaline soils. *Biol. Fert. Soils*. 4**1**: 52–58.

Jahan, M., Koocheki, A., Ghorbani, R., Rejalli, F., Aryayi, M., and Ebrahimi, E. 2010. The effect of biological fertilizers application on some agroecological characteristics of corn under conventional and ecological cropping systems. Iranian Journal of Field Crops Research 7: 375-391. (In Persian with English Summary)

Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.J.M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biol. Fertil. Soils 37, 1–16.

J**ia Y.S., Gray V.M., Straker C.J. (2004)**: The influence of *Rhizobium* and arbuscular mycorrhizal fungi on nitrogen and phosphorus accumulation by *Vicia faba*. Ann. Bot., *94*: 251–258.

Kantar, F., Elkoca, E., Ogutcu, H., and Algur, O.F. 2003. Chickpea yield in relation to *Rhizobium* inoculation from wild chickpea at high altitudes. J. Agron. Crop Sci. 189: 291-297.

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K. G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in foeniculum vulgare Mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technol. 93: 307-311.

Kathleen, K., Treseder. and Alison, C. 2006. Global Distributions of *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. Ecosystems, 9: 305–316-DOI: 10.1007/s10021-005-0110-x.

Kennedy, I.R. Choudhury, A.T.M. and Keeskes, M.I. 2004. Non- symbiotic bacterial diazotrophs in crop- farming systems: Can their potential for plant growth promotion be better exploited? Soil Biol, Bio Chem, 36: 1229- 12440

Kertesz, M.A., Mirleau, K., 2004. The role of soil microbes in plant sulfur nutrition. J. Exp. Bot. 55, 1–7.

Khandan Bejandi, T., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., Asghari Zakaria, R., Namvar, A., and Jafari Moghaddam, M. 2010. Effect of plant density, rhizobia and microelements on yield and some of morph physiological characteristics of chickpea. European Journal of Crop Production 3(1): 139-157.

Koutroubas, S.D., Parageorgiou, M., and Fotiadis, S. 2009. Growth and nitrogen dynamics of spring chickpea genotypes in a Mediterranean-type climate. Journal of Agricultural Science 147: 445-458.

Krishna, H. Singh, S. K. and Sharma, R. R. (2005) Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculated during ex vitro acclimatization. Scientia Horticulturae 106: 554-567.

Krishnan, H. R., Jian, G., Krishnan, H. A. and Weibold, W. J. (2000), " Seed storage protein composition of non-nodulation soybean and its influence on protein quality", **Plant Sci**. 2: 191-990.

Kumutha, K. Sempavalan, J. and Santhanakrishnan, P. 2004. Effect of insoluble phosphate and dual inoculation on soybean. P. 354-358, In: Kannaiyan, S., K. Kumar. And k. Govindarajan (eds.), Biofertilizers Technology. Scientific publishers. India.

Laei, Gh., Khajehzadeh, M. H., Afshari, H., Ebadi, A. Gh. and Abbaspour, H. (2011). Effect of mycorrhiza symbiosis on the NaCl salinity in *Sorghum bicolor*. African Journal of Biotechnology 10: 7796-7804.

Lang, F., Bratek, Z. and Paradi, I. 2003. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus supply on polyamine content, growth and photosynthesis of plantago lanceolata. Biologia Plantarum. 46(4): 563-569.

Langley, J.A., Johnson, N.C., Koch, G.W., 2005. Mycorrhizal status influences the rate but not the temperature sensitivity of soil respiration. Plant Soil 277, 335–344.

Leffel, R. C., Cregan, P. B. Balgiana, A. P. And Thibeau, D. J. (1992), " Nitrogen metabolism of normal and high-seed- protein soybean", **Crop science**. 32: May- June, N. 3.

Lefroy, R. D. B., Sholeh and Blair, G. 1997. Influence of sulfur and phospgorus placement, and sulfur particle size, on elemental sulfur oxidation and the growth response of maize (Zea mays). *Aust. J. Agr. Res*. **48**: 485–495.
Lestingi, A., Degiorgio, D., Montemurro, F., Convertini, C. and Laudadio, V. 2007. Effects of bio-activators on yield and quality composition of triticale forage as an animal food resource. Journal of Food Agriculture & Environment. 5(1): 164-171.
Liu A, Hamel C, Elmi A, Costa C, Ma B, Smith DL (2002). Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonized by arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. Can. J. Soil Sci. 82(3): 271- 278.
Lohrke SM, Orf JH, Sadowsky MJ (1996) Inheritance of hostcontrolled restriction of nodulation by *Bradyrhizobium japonicum* strain USDA 110. *Crop Science*, 36, 1271–1277.

Malekouti, M., Moshiri, F., and Geybi, M. 2005. Desirable Concentration of nutrient elements in soil in some farming and garden crops. 405 Technical Bulletin of soil and water institute. Sana Pulications. Tehran, Iran, Pp: 15-16.(In Persian)
Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant Soil 159:89-102.
Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. San Diego, CA. USA. 849 pp.
Martins, M. A., Gonclaves, G. F. D. E. and Soares, A.C.F. 2000. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi associated with phenolic compounds on the growth of papaya. *Pes. Agropec. Bra* 35(7): 465-1471.
Marten, H., and Hocking, P. 2004. An evaluation of the phosphorus benefits from grain legumes in rational cropping using 32p isotope dilution.
Martenson, A.M. Rydberg, I. and Vestberg, M. (1998). Potential to improve transfer of N in intercropped systems by optimizing host-endophyte combinations. *Plant and Soil* 205, 57-66.

Meghvansi, M. K., Kamal, P. and Mahna, S. K. (2005), " Identification od pH tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strsins and their symbiotic effectiveness in soybean.
Mobasser, H.R., A. Moradgholi, A. Mehraban, S. Koohkan. 2012. Investigation of mycorrhizal effect on agronomic traits and protein percent of corn varieties in Sistan. International Journal of AgriScience. 2(2): 108-119.

Mohammadi, M., Majnoon Hoseini, N., Esmaeili, A., Dashtaki, M., and Mohammad Alipour, H. 2011. Study of the Rhizobium function on yield and yield components, chlorophyll and seed protein of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Field Crops Science 42(3): 535-543. (In Persian).
Mohammadi Aria, M., A. Lakzian, G. Haghnia, H. Besharati and A. Fotovvat. 2011. Effect of Thiobacillus and Aspergillus on availability of phosphorus from enriched phosphate soil with sulfur and vermicompost. Iran. J. Water Soil 24: 1–9. (In Persian with English abstract).
Mohanty, S., Paikaray, N.K. and Rajan, A.R. 2006. Availability and uptake of phosphorus from organic manures in groundnut (Arachis hypogeal L.)-corn (Zea mays L.) sequence using radio tracer technique. Geoderma. 133: 225-230.
Moradi, S., Besharati, H., Feizi Asl, V., Nadian, H., Karimi, E., and Golchin, A. 2009. Effect of different levels of humidity, mycorrhiza and Rhizobium in germination, flowering time and morphological traits in chickpea. In: 11th Iranian Soil Science Congress, Gorgan, Iran, 12-15 July. p. 243-244. (In Persian).

Moreira FMS, and Siqueira JO (2006). Microbiologia e bioquimica do solo. Editora UFLA 2aedic¸a˜o 729 pp.

Mukerji, K. G and B. P. Chamola (2003). *Compendium of Mycorrhizal research*. A. P. H. Publisher. New Delhi. P. 310.

Moural, J. D. O., Rocha, M. D. M., Ferreira Gomes, R, L., Freire Filbo, F. R., Silva, K. J. D. E., and queiroz Ribeiro. V. 2012. Path analysis of iron and zinc contents and others traits in cow pea. Crop Breeding and Applied Biotechnology 12: 245- 252.

Neveen, B., Talaat, A. and Abdallah, M. 2008. Response of Faba Bean (*Vicia faba L.*) to Dual Inoculation with *Rhizobium* and *VA Mycorrhiza* under Different Levels of N and P Fertilization.

Nomedo, S. L. and S. C. Gupta. 1992. response of pulses to microbial inoculents- A review of the work done at sehore (MP). In national seminar on organic farming Eds. M. M. Rai and L. N. Verma. Pp: 150- 161. Jawaharal Nehru Kirishi Vishwa Vidyalaya, Jabalpur, MP, India.

Ogini, Y. O., O, P. Stonehouse, and E. A. Clard, 1999. Comparison and conventional dairy farms in Ontario, A. M. J. Alternative Agric., 14:122-128.

Ogutcu, H., O. F. Algur., E. Elkoca, and F. Kantar. 2008. The determination of symbiotic effectiveness of Rhizobium strains isolated from wild chickpea collected from high altitudes in Erzurum. Turkish Journal of Agricultural Forestry. 32: 241-248.

Pacovsky, R.S. 1986. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus fertilized soybeans. Plant soil. 95:379-388.

Pathiratna, L.S.S., Waidyanatha, U.P.De.S., and Peries, O.S. 1989. The effect of appatite and elemental sulfur mixtures on growth and P content of Centrocema pubescens. Fertilizer Research, 21: 37-43.

Patreze CM, Cordeiro L (2004).Nitrogen-fixing and vesicular arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimosease, Forst Ecol. Mangt.196:275- 285.

Peoples, M.B. and Graswell, E.T. (1992) Biological nitrogen fixation: investments, expectations and actual contribution to agriculture. *Plant and Soil* 141, 13-39.

Peoples, M.B, Herridge, D.E. and Ladha, J.K. (1995) Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production *Plant and Soil* 174, 3-28.

Quin F.M. 1997. Introduction in Advances in Cowpea Research. edited by Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashell K.E., Jackaiu L.E.N., Sayce Publishing Devenon, UK.

Roberts, D.J., Nica, D., Zuo, G., Davis, J.L., 2002. Quantifying microbially induced deterioration of concrete: initial studies. Int. Biodeterior. Biodegrad. 49, 227e234.

Rudresh, D. L., M. K. Shivaprakash, and R. D. Prasad. 2005. Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma spp*. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Applied Soil Ecological. 28: 139-146.

Rupela, O. P. and Taura, P. (1973): Utilization of Thiobacillus to reclaim alkali soils. Soil Biol.Biochem., 6, 899-901.

Ryan MH, Angus JF (2003). Arbuscular mycorrhizae in wheat and field pea crops on a low P soil: increased Zn-uptake but no increase in Puptake or yield. Plant and Soil 250(2):225-239.

Saharan, B.S., and Nehra, V. (2011). Plant growth Promoting rhizobacteria: A Critical Review . J. Life Sciences and Medicine Research, Volume 2011: LSMR-21.

Salardini, A. 2005. Soil Fertility. Tehran university Press, Iran. 171p. (In Persian)
Schachtman, D.P., Reid, R.J., Ayling, S.M., 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiol. 116, 447–453 **.**
Samarbakhsh, S., Rejali, F., Ardakani, M.R., Pak Nejad and Miransari, M. (2009). The combined effects of fungicides and Arbuscular Mycorrhiza on corn (Zea mays L.)growth and yield under field conditions. J. Biological Sciences.,9:372-376.
Sameni, A. M. and Kasaraian, A., 2004. Effect of agricultura; sulfur on characteristics of different calcareous soils from dry region of Iran. I. disintegration rate of agricultural sulfur and its effects on chemical properties of the soils. Soil Science and Plant Analysis, 35(9): 1219-1234.

Selvakumar, G. and Thamizhiniyan, P. (2011) The Effect of the Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungus *Glomus intraradices* on the Growth and Yield of Chilli *(Capsicum annuum L.)* Under Salinity Stress. World Applied Sciences Journal 14: 1209-1214.
Schmidt, P.E., Broughton, W.J., and Werner, D. 1994. Nod factors of *Bradyrhizobium japonicum* and *Rhizobium* sp. NGR234 induce flavonoid accumulation in soybean root exudates. Mol. Plant–Microbe Interact. **7**: 384–390.
Shahhosseini, Z., A. gholami, H. Asghari. 2012. Study the correlation among some growth characteristics of maize and yield under symbiosis with mycorrhizae fungi. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 4: 696-698.

Shamseldin AAY (2007) Use of DNA marker to select well-adapted Phaseolus-symbionts strains under acid conditions and high temperature. Biotechnol Lett 29:37–44.

Sharma , A. K. 2003. Biofertilizers for sustainable agriculture. 407 pp. Agrobios (India).
Sharma AK (2004). Biofertilizers for sustainable agriculture. 1st ed. Published by Agrobios (India). pp. 201-209.
Sharma, A. Parmar, D. K. Kumar, P. Singh, Y. Sharma, R. P. 2006. Azotobacter Soil Amendment Integrated with cow manure reduces Need for NPK. Fertilizers in Sprounding Soil. International Journal of Vegetable Science, 14: 3, 273-285.

Shenoy, V.V., and Kalagudi, G.M. 2005. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. Biotechnology Advances 23: 501-513.
Shi, A.D., Li, Q., Huang, J., Yuan, L., 2013. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition and chlorogenic acid content of Lonicera confusa seedlings under field conditions. Pedosphere 23, 333–339.
Shinde, D.B., Kadam, R. M. and Jadhav, A. C. 2004. Effect of sulfur oxidizing micro- organisms on growth of soybean. J. Maharashtra Agric. Univ., 29: 305- 307.

Silveria J. A. G, Costa R. C. L, Oliveira JTA, 2001. Drought- indueed effects and recovery of nitrate assimilation and noudel activity in cowpea plants. Braz. Microbiology. 32: 187-194.

Singh B. B, Mohar D. R, Dashiell K. E,1997. Advancess in cowpea researchers, II TA- jt RCAS. Ibadan, Niger .

A. Singh, A. Baoule, H. Ahmed, A. Dikko, U. Aliyu, M. Sokoto, J. Alhassan, M. Musa and B. Haliru, "Influence of Phosphorus on the Performance of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) Varieties in the Sudan Savanna of Nigeria," *Agricultural Sciences*, Vol. 2, No. 3, 2011, pp. 313-317.

Sivaramaiah, N., Malik, D. K., and Sindhu, S. S. 2007. Improvement in symbiotic efficiency of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by coinoculation of *Bacillus* strains with *Mesorhizobium sp. Cicer*. Indian Journal of Microbiology 47: 51-56.

Smith, S.E., B.J. St. John, F.A. Smith. And D.J.D. Nicholas. 1985. Activity of glutamine synthesas and glutamate dehydrogenase in Trifolium subterraneum L. and Allium cepa L.: Effect of mycorrhizal infection and phosphate nutrition. New phytol. 99:211-227.

Smith, S.E., Read, D.J., 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London. 787 pp.

Soleimani, R., and Asgharzadeh, A. 2010. Effect of *Mesorhizobium* inoculation and fertilizer application on yield and yield components of rainfed chickpea. Iranian Journal of Pulses Research 1: 1-8.

Stamford, N.P., Santos, C.E.R.S., Santos, P.R., Santos, K.S. and Montenegro, A. (2005) Effects of rock phosphate, sulphur with and without *Acidithiobacillus* and organic byproducts on mimosa (*Mimosa caesalpiniifolia*) grown in a Brazilian tableland soil. *Tropical Grasslands*, 39, 54–61.

Stamford, N.P., Santos, P.R., Santos, C.E.R.S., Freitas, A.D.S., Dias, S.H.L., Lira Junior, M.A., 2007. Agronomic effectiveness of biofertilizers with phosphate and Acidithiobacillus in a Brazilian tableland acidic soil grown with yam bean. Biores. Technol. 98, 1311–1318.

Starkey, R. (1966). *Oxidation and reduction of sulfur compounds in soil*. Soil science, 101: 297-306.

Subramanian KS and Charest C, 1997. Nutritional, growth and reporductive responses of
maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at
tasselling. Mycorrhiza 7 : 25- 32.

Talaat, N. B. and Abdallah, M. A. (2008), " Response of faba bean (*Vicia faba* L.) to dual inoculation with *Rhizobium* and VA mycorrhiza under different levels of N and P fertilization, " **J. Apply. Sci. Res**. 4(9): 1092-1102.

Tate, R. L (1995). The sulfur and relatwd biogeochemical cycl. P: 359-372. In M. Alexander (ed) *Soil Microbiology*. John Wiley and Sons, New York.

Thonar, C., Schneph, A., Frossard, E., Roose, T. and Jansa, J. 2011. Traits related to differences in function among three arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Soil. 339: 231-245.

Tisdale, S. L and W. L. Nelson (1975). Soil Fertility and Fertilizers Publishing. New York, USA, 694 pp.
Tisdale, S. L., Nelson, W. L., Beaton, J. D. and Havlin, J. L. (1993): Soil Fertility and Fertilizers. 5th ed. Mcmillon publishing Co., New York.
Togay, N., Y. Togay, K. M. Cimrin, and M. Turan. 2008. Effect of Rhizobium inoculation, sulfur and phosphorus application on yield, yield components and nutrient uptake in chick pea (*Cicer aretinum* L.). African Journal of Biotechnology. 7(6): 776-782.
Toussaint, J.P., Smith, F.A. and Smith, S.E. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhiza. 17(4): 291-297.
Turk MA and Tawaha ARM, 2002. Impact of seeding rate, seeding date, rate and method of phosphorus application in faba been (*Vicia faba* L. minor) in the absence of moisture stress. Biotechnology Agronomy Environment, 6(3): 171-178.
Turk, M. A., Assef, T. A., Hameed, K. M. and Al-Tawaha, A. M. 2006. Significance of Mycorrhizae. World Journal of Agricultural Sciences. 2(1): 16-20.
Udo, I. O. and Akpan, E. A. 2012. Evaluation of Local Spices as Biopesticides for the Control of Ootheca muabilis, Shalbera and Clavigralla tomentosicollis (Stal.) on Cultivated Cow pea (Vigna unguiculata L.) in Nigeria. Journal of Agriculturul Science. 4 (10).

Upadhyay, R. G., Sharms, S. and Daramwal, N. S. (1999), " Effect of Rhizobium and graded levels of phosphorus on the growth and yield of summer green gram (*Phaseolus radiates*) ", Legume Research, 22 (4), 277-279.

Valenzuela, H., and Smith, J. 2002. Cowpea. Sustainable Agriculture Green Manure Crops. Pp. 1-3.
Van de Staaij J.W.M., Rozema J., Van Beem A., Aerts R. (2001). Increased solar UV-B radiation may reduce infection by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in dune grassland plants: evidence from five years of field exposure. Plant Ecology 154: 171-177.
Ventura, W and J. K. Ladha (1997). Sesbania phosphorus requirement when used as biofertilizer for long- term rice cultivation. Soil Sci. Soe. Am. J. 61: 1240-1244.
Vessy, K (2003), *plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers*. Plant and Soil, 255: 571-586.
Vukovic, L., Mesic, M., Zgorelec, Z., Jurisic, A. and Sajko, K., 2008. Nitrogen use efficiency in winter wheat. Cereal Research Communications, 36: 1199- 1202.

Walley, F. L., S. K. Boahen., G. Hnatowich, and C. Stevenson. 2005. Nitrogen and phosphorus fertility management for desi and kabuli chickpea. Canadian Journal of Plant Science. 85: 73-79.
Wei, S., Sanchez, M., Trejo, D., Gillis, C., 2010. Microbial mediated deterioration of reinforced concrete structures. Int. Biodeterior. Biodegrad. 64, 748e754.

Widada, J., Damarjaya, D.I., and Kabirun, S. 2007. In: Velazquez, E., and Rodriguez-Barrueco, C. (eds). The interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria on the growth and nutrients uptake of sorghum in acid soil. First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Springer. p. 173-177.
Woese,C.R., et al. 1984. The phylogeny of purple bacteria: the alpha subdivision. Syst. Appl. Microbiol. 5: 315-326.

Xavier L.J.C., Germida J.J. (2003). Selective interaction between arbuscular mycorrizal fungi and *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* enhance pea yield and nutrition. Biol. Fertil. Soils, *37*: 262–267.

Yaman, M. & Cinsoy, A. S. (1996). Determination of the most effective Rhizobium strain (*Rhizobium japonicum* L.) in soybean. Journal Aegean Agriculture Research Institue, 6, 84-96.

Zahir, A. Z., Arshad, M. and Frankenberger, W. F. 2004. Plant growth promoting Rhizobacteria, Advances in Agronomy. 81: 97-168.

Zhang, H. (2002), " Brady Rhizobium Japonicum mutant allowing improved soybean yield in short season areas with cool spring soil temperature", **Crop Science**. 42: 1186-1190.

Zhu, Y.G., Miller, R.M., 2003. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil–plant systems. Trends Plant Sci. 8, 407–409.

Zia-ui-haq, M., Ahmad, S., Amarowicz, r. and De Feo, V. 2013. Antioxidant Activity of the Extracts of some Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) walp.) Cultivars Commonly Consumed in Pakistan. Molecules, 18: 2005- 2017.

Zodape, S. T. (2001). *Seaweed as a biofertilizer*. J. Sci. Indust. Res, 60: 378-382.

Abstract

The experiment was determination of Mycorrhizal fungi, Rhizobium and Thiobacillus Bacteria Inoculation on growth and yield of cow pea during growing season of 2014 at the Azad University Agricultural Research Station located in shahr-e-rey. The factors were consisted of mycorrhiza inoculation, in three levels of inoculation with *G.mosseae* ($m_۱$), *G.intraradices* ($m_۲$) and non-inoculated ($m_۰$), rhizobium in two levels of inoculation ($r_۱$) and control ($r_۰$) and thiobacillus in two levels of inoculation ($b_۱$) and control ($b_۰$). Results show that inoculation of mycorrhiza, rhizobium and thiobacillus increased stem height, pods per plant, seeds per pod, sheath dry weight, leaf area index, weight of 100 grains, grain yield and biological yield, harvest index, root colonization percentage, chlorophyll index, leaf cholorophyll and carotenoides seed protein percentage and nitrogen percentage significantly compared to controls. Seed Phosphorus percentage and relative water content were only affected by the using of mycorrhiza. Interaction between of mycorrhizal and rhizobium bacteria on increasing seeds per pod, sheath dry weight, biological yield, grain yield chlorophyll a and carotenoids were significant. The interaction of mycorrhizal and thiobacillus on increasing Sheath dry weight was significant. Also, interaction of mycorrhizal, rhizobium and thiobacillus on increasing sheath dry weight and grain yield were significant.

Keywords: Biological yield, Grain yield, Carotenoids, Sheath dry weight, Weight of 100 grains

Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

Department of Agronomy

The Effects of Arbuscular *Mycorrhizal* and *Rhizobium* and *Thiobacillus* Bacteria Inoculation on Growth and Yield of Cow pea (*Vigna Sinensis* L.)

Armaghan Khakbazpoor

Supervisors:
Dr.A. Gholami

Advisors:
Dr. A. Malek sabet
Dr. M. baradaran firooz abadi

February 2016