**دانشکده کشاورزی**

**رساله دکتری مهندسی زراعت**

# تأثیر کودهای زیستی و محلول‌پاشی نانو آهن بر عملکرد کمی، خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa*. L)

**نگارنده:** مریم برومند سویری

**استاد راهنما**

دکتر مصطفی حیدری

**اساتید مشاور**

دکتراحمد غلامی

دکتر هادی قربانی

بهمن ۱۳۹۸

مدیریت تحصیلات تکمیلی

**باسمه تعالی**

شماره: ۱۱۱۱/ر
تاریخ: ۱۳۹۹/۴/ ۲
ویرایش:

## فرم شماره ۱۲: صورت جلسه نهایی دفاع از رساله دکتری (Ph.D)

بدینوسیله گواهی می شود خانم مریم برومند سویری دکتری رشته زراعت/ فیزیولوژی گیاهان زراعی به شماره دانشجویی ۹۳۰۰۲۶۵ ورودی مهر ماه سال ۱۳۹۳در تاریخ ۱۳۹۸/۱۱/۱۴ از رساله نظری☐ / عملی☐ خود با عنوان : تاثیرکودهای زیستی و محلول‌پاشی نانو آهن بر عملکرد کمی، خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa L.*)
دفاع و با اخذ نمره ۱۸/۸۵ به درجه : عالی ☑ نائل گردید.

جدول تعیین درجه نمره رساله برای ورودیهای ۹۴ و ماقبل

| | |
|---|---|
| الف) درجه عالی: نمره ۲۰-۱۹ ☐ | ب) درجه خیلی خوب: نمره ۱۸/۹۹ – ۱۷☐ |
| ج) درجه خوب: نمره۱۶/۹۹– ۱۵☐ | د) مردود: کمتر از ۱۵ ☐ |

جدول تعیین درجه نمره رساله برای ورودیهای ۹۵ و مابعد

| | |
|---|---|
| الف) درجه عالی: نمره ۲۰-۱۹ ☐ | ب) درجه خیلی خوب: نمره ۱۸/۹۹ – ۱۸☐ |
| ج) درجه خوب: نمره۱۷/۹۹– ۱۶☐ | د) مردود: کمتر از ۱۶ ☐ |

| ردیف | هیئت داوران | نام و نام خانوادگی | مرتبه علمی | امضاء |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | دکتر مصطفی حیدری | استاد راهنما | دانشیار | |
| ۲ | دکتر احمد غلامی<br>دکتر هادی قربانی | مشاورین | دانشیار<br>دانشیار | |
| ۳ | دکتر عظیم قاسم‌نژاد | استاد مدعو خارجی | دانشیار | |
| ۴ | دکتر حمیدرضا اصغری | استاد مدعو داخلی | دانشیار | |
| ۵ | دکتر مهدی برادران فیروزآبادی | استاد مدعو داخلی | دانشیار | |
| ۶ | دکتر محمدرضا عامریان | سرپرست ( نماینده ) تحصیلات تکمیلی دانشکده | دانشیار | |

**مدیر محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه:**

ضمن تأیید مراتب فوق مقرر فرمائید اقدامات لازم در خصوص انجام مراحل دانش آموختگی خانم مریم برومند سویری بعمل آید.

**نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده : دکتر محمدرضا عامریان**

**تاریخ و امضاء و مهر دانشکده**

۹۹/۳/۱۵

اگر در خور تقدیم باشد

تقدیم می کنم به:

## پدر و مادرم

که از خواسته هایشان گذشتند،

سختی ها را به جان خریدند

و خود را سپر بلای مشکلات و ناملایمات کردند

تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده ام برسم.

## و همسرم

که حمایت هایش بی انتهاست

به نام ایزد یکتا

پیش از همه و بیش از همه شکر و سپاس خدایی را که توفیق را رفیق راهم ساخت تا انجام این تحقیق را به پایان رسانم.

بر خود لازم می دانم از تمام عزیزانی که پیمودن این مسیر را برایم آسان تر کردند تشکر و قدردانی کنم.

از استاد بزرگوارم، جناب آقای دکتر مصطفی حیدری که در این مسیر با نهایت بردباری و مهربانی مرا از راهنمایی های ارزنده خویش بهره مند فرمودند بی نهایت سپاسگزارم.

از اساتید مشاور ارجمندم، جناب آقایان دکتر احمد غلامی و دکتر هادی قربانی که همواره با راهنمایی های بی دریغشان راهگشای این تحقیق بودند سپاسگزاری می کنم.

همچنین از اساتید محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات جناب آقایان دکتر محمدرضا عامریان، دکتر مهدی برادران فیروزآبادی، دکتر منوچهر قلی پور، دکتر حمیدرضا اصغری، دکتر حسن مکاریان و دکتر حمید عباس دخت که در طی این دوره از تحصیلم از علم و راهنمایی هایشان بهره بردم، متواضعانه سپاسگزارم.

از کارشناسان و کارکنان آزمایشگاه های دانشکده کشاورزی به پاس همکاری های ارزنده شان صمیمانه تشکر می کنم.

در پایان از پدر و مادر عزیزم نخستین آموزگاران زندگیم که پیمودن روزهای سخت و آسان زندگی ام بدون دعای خیر و برکت وجودشان غیر ممکن بود و همسر عزیزم که همواره حامی و مشوق من بود بی نهایت سپاسگزارم.

مریم برومند سویری

تعهدنامه

اینجانب **مریم برومند سویری** دانشجوی دوره دکتری رشته **زراعت – فیزیولوژی گیاهان زراعی** دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان‌نامه **تأثیر کودهای زیستی و محلول‌پاشی نانو آهن بر عملکرد کمی، خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سیاهدانه** (*Nigella sativa L.*) تحت راهنمائی **دکتر مصطفی حیدری** متعهد می‌شوم

- تحقیقات در این پایان‌نامه 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 پایان‌نامه 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 می‌باشد 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 پایان‌نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه ، در مواردی که از موجود زنده ( یا بافتهای آنها ) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، 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 می‌باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

# چکیده

آزمایش حاضر با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر خصوصیات کمی و کیفی سیاهدانه انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به‌صورت گلدانی و مزرعه‌ای در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح محلول‌پاشی نانو اکسید آهن صفر، ۱/۵و ۳ گرم در لیتر به عنوان فاکتور اول و پنج سطح کود زیستی شامل: قارچ‌های میکوریزی *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* و باکتری‌های محرک رشد شامل ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به همراه تیمار شاهد به‌عنوان فاکتور دوم انتخاب شدند. نتایج هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای افزایش میزان رنگدانه های فتوسنتزی را در نتیجه محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و تلقیح با کودهای زیستی را در برداشت. در بین تیمارهای مورد بررسی قارچ *G. intraradices* عملکرد دانه و اجزای عملکرد را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد و نقش آن در افزایش میزان روغن، اسانس و تیموکینون اسانس بسیار محسوس بود. این قارچ سبب افزایش طول و وزن ریشه و اندام هوایی در گیاه شد که به‌دنبال آن جذب عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و آهن در ریشه، اندام هوایی و دانه افزایش یافت. تلقیح با کودهای زیستی به‌ویژه قارچ *G. intraradices* فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد. این آنزیم‌ها با افزایش غلظت نانو اکسید آهن به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند که به نظر می‌رسد به دلیل ایجاد سمیت آهن اضافی در گیاه باشد. همچنین با توجه به تأثیر معنی‌دار محلول‌پاشی نانواکسید آهن در خصوصیات کیفی به نظر می‌رسد غلظت ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه قارچ *G. intraradices* می‌تواند سبب بهبود خصوصیات کمی و کیفی در گیاه سیاهدانه شود.

**کلمات کلیدی :** قارچ میکوریزا، باکتری محرک رشد، رنگدانه های فتوسنتزی، عملکرد اسانس، عناصر معدنی.

# لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

**۱**- برومند سویری، م.، حیدری، م.، غلامی، ا و قربانی، ه. ۱۳۹۸. تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی ریشه و بخش هوایی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.). مجله علوم باغبانی ایران.

**۲**- برومند سویری، م.، حیدری، م.، غلامی، ا و قربانی، ه. ۱۳۹۸. تأثیر کودهای زیستی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد کمی و کیفی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.). مجله تحقیقات گیاهان دارویی ایران.

۳- برومند سویری، م.، حیدری، م.، غلامی، ا و قربانی، ه. ۱۳۹۸. تأثیر کودهای زیستی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد دانه و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.). مجله علوم گیاهان زراعی ایران.

**۴**- برومند سویری، م.، حیدری، م.، غلامی، ا و قربانی، ه. ۱۳۹۷. بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی گیاه دارویی سیاه‌دانه. پانزدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران.

۵- برومند سویری، م.، حیدری، م.، غلامی، ا و قربانی، ه. ۱۳۹۸. تأثیر کودهای زیستی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد در گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.). ششمین همایش ملی گیاهان دارویی، طب سنتی و کشاورزی ارگانیک. دانشگاه بوعلی سینا همدان.

# فهرست مطالب


فصل اول مقدمه ..... ۱
فصل دوم کلیات و بررسی منابع ..... ۷
۲-۱ - سیاهدانه ..... ۸
۲-۲ - خصوصیات گیاه‌شناسی سیاهدانه ..... ۸
۲-۳ - ترکیبات شیمیایی سیاهدانه ..... ۹
۲-۴ - نیاز اکولوژیکی و زراعی سیاهدانه ..... ۱۰
۲-۵ - کاربرد سیاهدانه ..... ۱۰
۲-۵-۱ - اثر داروشناسی ..... ۱۰
۲-۵-۲ - محصولات در بازار ..... ۱۱
۲-۶ - سیاهدانه در ایران ..... ۱۱
۲-۷ - عناصر غذایی در گیاهان ..... ۱۲
۲-۷-۱ - عناصر غذایی کم مصرف در گیاهان ..... ۱۲
۲-۷-۲ - آهن ..... ۱۳
۲-۷-۲-۱ - اهمیت کاربرد عنصر آهن در تغذیه گیاهان زراعی و باغی ..... ۱۳
۲-۷-۲-۲ - علائم کمبود و بیشبود آهن در گیاهان ..... ۱۶
۲-۸ - محلول‌پاشی ..... ۱۸
۲-۹ - نانو تکنولوژی ..... ۱۹
۲-۹-۱ - کاربرد نانو در کشاورزی ..... ۱۹
۲-۹-۲ - ورود نانو کودها به داخل گیاه ..... ۲۱
۲-۹-۳ - نقش محلول‌پاشی نانو ذرات آهن در گیاهان ..... ۲۳
۲-۱۰ - کودهای زیستی ..... ۲۶
۲-۱۰-۱ - نقش کود زیستی در عملکرد و اجزای عملکرد گیاهان ..... ۲۶
۲-۱۰-۲ - قارچ‌های میکوریزا ..... ۲۷
۲-۱۰-۳ - باکتری‌های محرک رشد ..... ۳۴
فصل سوم مواد و روشها ..... ۴۳
۳-۱ - محل اجرای آزمایش ..... ۴۴
۳-۲ - مواد گیاهی و اجرای آزمایش ..... ۴۴
۳-۳ - آزمایش مزرعه‌ای ..... ۴۴

۳-۳-۱ - نوع آزمایش ..... ۴۴
۳-۳-۲ - آماده سازی زمین آزمایشی ..... ۴۵
۳-۳-۳ - عملیات کاشت ..... ۴۵
۳-۳-۴ - عملیات داشت ..... ۴۵
۳-۳-۵ - اعمال تیمارها ..... ۴۵
۳-۳-۶ - برداشت ..... ۴۶
۳-۴ - آزمایش گلدانی ..... ۴۶
۳-۴-۱ - نوع آزمایش ..... ۴۶
۳-۴-۲ - عملیات کاشت ..... ۴۷
۳-۴-۳ - عملیات داشت ..... ۴۷
۳-۴-۴ - اعمال تیمارها ..... ۴۷
۳-۵ - اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی (آزمایش مزرعه‌ای و گلدانی) ..... ۴۸
۳-۵-۱ - اندازه‌گیری رنگدانه های فتوسنتزی ..... ۴۸
۳-۵-۲ - نمونه برداری جهت اندازه‌گیری رنگدانه‌ها، فلاونوئید و آنتوسیانین ..... ۴۸
۳-۵-۲-۱ - اندازه‌گیری کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید ..... ۴۸
۳-۵-۳ - فلاونوئید برگ ..... ۴۹
۳-۵-۴ - آنتوسیانین برگ ..... ۴۹
۳-۵-۵ - اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ..... ۵۰
۳-۵-۵-۱ - نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برگ ..... ۵۰
۳-۵-۵-۲ - نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه ..... ۵۰
۳-۵-۵-۳ فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ..... ۵۰
۳-۵-۵-۴ - فعالیت آنزیم کاتالاز ..... ۵۱
۳-۵-۵-۵ - فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز ..... ۵۱
۳-۶ - اندازه‌گیری برخی صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۵۲
۳-۶-۱ - اندازه‌گیری درصد روغن دانه ..... ۵۲
۳-۶-۲ - اندازه‌گیری درصد و عملکرد اسانس دانه ..... ۵۲
۳-۶-۳ - اندازه‌گیری درصد تیموکینون اسانس ..... ۵۳
۳-۷ - اندازه‌گیری عناصر غذایی در دانه، اندام هوایی و ریشه ..... ۵۳
۳-۷-۱ - نمونه‌برداری از دانه (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۵۳
۳-۷-۲ - نمونه برداری از اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی) ..... ۵۳
۳-۷-۳ - اندازه‌گیری درصد نیتروژن ..... ۵۴
۳-۷-۴ - اندازه‌گیری فسفر به روش کالریمتری(رنگ زرد مولیبدات وانادات) ..... ۵۵

۳-۷-۵ - اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای ..... ۵۵
۳-۷-۶ - اندازه‌گیری آهن به روش جذب اتمی شعله‌ای A.A.S ..... ۵۶
۳-۸ - اندازه‌گیری برخی صفات کمی ..... ۵۷
۳-۸-۱ - ارتفاع گیاه (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۵۷
۳-۸-۲ - تعداد شاخه جانبی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۵۷
۳-۸-۳ وزن خشک ریشه و اندامهای هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۵۷
۳-۸-۴ - محاسبه نسبت وزن ریشه به بخش هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۵۷
۳-۸-۵ - طول ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۵۷
۳-۸-۶ - نسبت طول ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۵۸
۳-۹ - عملکرد و اجزای عملکرد (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۵۸
۳-۹-۱ - تعداد کپسول در بوته ..... ۵۸
۳-۹-۲ - تعداد دانه در کپسول ..... ۵۸
۳-۹-۳ - وزن هزار دانه ..... ۵۸
۳-۹-۴ - عملکرد دانه و عمکلرد بیولوژیکی ..... ۵۸
۳-۱۰ - درصد کلونیزه شدن قارچ میکوریزا با ریشه‌ها (آزمایش گلدانی) ..... ۵۹
۳-۱۰-۱ - نمونه برداری و رنگ‌آمیزی ریشه ..... ۵۹
۳-۱۰-۲ - اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه ..... ۵۹
۳-۱۱ - تجزیه و تحلیل داده‌ها ..... ۵۹
فصل چهارم نتایج و بحث ..... ۶۱
۴-۱ - صفات بیوشیمیایی (آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای) ..... ۶۲
۴-۱-۱ - میزان رنگدانه های فتوسنتزی ..... ۶۲
۴-۱-۱-۱ - کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل ..... ۶۲
۴-۱-۱-۲ - کاروتنوئید ..... ۶۹
۴-۱-۲ آنتوسیانین ..... ۷۲
۴-۱-۳ - فلاونوئید ..... ۷۵
۴-۱-۴ آنزیم‌های آنتی اکسیدان (آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای) ..... ۷۹
۴-۱-۴-۱ فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ و ریشه ..... ۷۹
۴-۱-۴-۲ - فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ و ریشه ..... ۸۵
۴-۱-۴-۳ فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در برگ و ریشه ..... ۸۹
۴-۲ - عناصر موجود در گیاه ..... ۹۳
۴-۲-۱ - عناصر موجود در دانه (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۹۳
۴-۲-۱-۱ - غلظت نیتروژن دانه ..... ۹۳

۴-۲-۱-۲ - غلظت فسفر دانه ..... ۹۴
۴-۲-۱-۳ - غلظت پتاسیم دانه ..... ۹۶
۴-۲-۱-۴ - غلظت آهن دانه ..... ۹۸
۴-۲-۲ - عناصر غذایی موجود در ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۰۰
۴-۲-۲-۱ - محتوای نیتروژن در ریشه و اندام هوایی ..... ۱۰۰
۴-۲-۲-۲ - فسفر ریشه و اندام هوایی ..... ۱۰۲
۴-۲-۲-۳ - پتاسیم در ریشه و اندام هوایی ..... ۱۰۵
۴-۲-۲-۴ - آهن در ریشه و اندام هوایی ..... ۱۰۶
۴-۳ - برخی از صفات کمی ..... ۱۱۰
۴-۳-۱ - وزن خشک اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی) ..... ۱۱۰
۴-۳-۲ - نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۱۴
۴-۳-۳ - طول ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۱۴
۴-۳-۴ - نسبت طول ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۱۸
۴-۳-۵ - ارتفاع (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۱۸
۴-۳-۶ - تعداد شاخه جانبی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۱۹
۴-۴ - عملکرد و اجزای عملکرد دانه (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۲۰
۴-۴-۱ - تعداد کپسول در بوته ..... ۱۲۰
۴-۴-۲ - تعداد دانه در کپسول ..... ۱۲۲
۴-۴-۳ - وزن هزار دانه ..... ۱۲۳
۴-۴-۴ - عملکرد دانه ..... ۱۲۶
۴-۴-۵ - عملکرد بیولوژیکی (زیستی) ..... ۱۲۷
۴-۵ - صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۳۱
۴-۵-۱ - درصد روغن ..... ۱۳۱
۴-۵-۲ - درصد و عملکرد اسانس ..... ۱۳۳
۴-۵-۳ - میزان تیموکینون اسانس ..... ۱۳۶
۴-۶ - درصد همزیستی قارچ میکوریزا (آزمایش گلدانی) ..... ۱۳۷
۴-۷ - همبستگی بین صفتها ..... ۱۳۹
فصل پنجم نتیجه گیری و پیشنهادات ..... ۱۴۷
نتیجه گیری ..... ۱۴۸
پیشنهادات ..... ۱۴۹
پیوستها ..... ۱۵۱
فهرست منابع ..... ۱۵۹

# فهرست جداول

جدول ۳-۱- ویژگی خاک مزرعه آزمایشی ..... ۴۴
جدول ۴-۱ - مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کاروتنوئید ..... ۷۰
جدول ۴-۲- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آنتوسیانین (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۷۵
جدول ۴-۳- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید (آزمایش گلدانی) .....۷۶
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (آزمایش گلدانی) ..... ۸۰
جدول ۴-۵- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه (آزمایش گلدانی) ..... ۸۷
جدول ۴-۶- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (آزمایش گلدانی) ..... ۹۰
جدول ۴-۷- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان برخی عناصر در دانه (آزمایش مزرعه‌ای) .....۹۶
جدول ۴-۸ مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان نیتروزن در ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی) .....۱۰۰
جدول ۴-۹- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فسفر اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی) .....۱۰۳
جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان پتاسیم اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی) .....۱۰۵
جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آهن ریشه (آزمایش گلدانی) .....۱۰۸
جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش گلدانی) .....۱۱۵
جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش مزرعه‌ای) .....۱۲۵
جدول ۴-۱۴ مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای) .....۱۳۳

جدول ۴-۱۵- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی درصد همزیستی قارچ‌های میکوریزا (آزمایش گلدانی) ..... ۱۳۹
جدول ۴-۱۶ ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش مزرعه‌ای ..... ۱۴۲
جدول ۴-۱۷ ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش گلدانی ..... ۱۴۴

# فهرست اشکال

شکل ۲-۱- گیاه سیاهدانه ..... ۹
شکل ۲ -۲ بزرگنمایی ذرات نانواکسید آهن با میکروسکوپ TEM (با بزرگنمایی ۸۰ تا ۵۰۰۰۰۰ برابر) (مظاهرینیا و همکاران، ۱۳۹۱) ..... ۲۶
شکل ۴-۱- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a (آزمایش گلدانی) ..... ۶۲
شکل ۴-۲- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل b (آزمایش گلدانی) ..... ۶۳
شکل ۴-۳- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل کل(آزمایش گلدانی) ..... ۶۴
شکل ۴-۴- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسیدآهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیلa (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۶۵
شکل ۴-۵- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل b (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۶۵
شکل ۴-۶- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل کل (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۶۶
شکل ۴-۷- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آنتوسیانین (آزمایش گلدانی) ..... ۷۳
شکل۴-۸- اثر متقابل محلول‌پاشی نانواکسیدآهن و کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید(آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۷۷
شکل ۴-۹- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۸۲
شکل ۴-۱۰- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ (آزمایش گلدانی) ..... ۸۶
شکل ۴-۱۱- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۸۸
شکل ۴-۱۲- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در برگ (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۹۱
شکل ۴-۱۳- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آهن اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۰۷

شکل ۴-۱۴ اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان وزن خشک اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۱۱
شکل ۴-۱۵ اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۱۴

# فهرست پیوست

پیوست ۱- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۵۲
پیوست ۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۵۲
پیوست ۳= تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۵۳
پیوست ۴- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۵۳
پیوست ۵- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۵۴
پیوست ۷- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عناصر اندازه‌گیری شده در دانه (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۵۵
پیوست ۸- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عناصر اندازه‌گیری شده در اندام هوایی (آزمایش گلدانی) ..... ۱۵۵
پیوست ۹- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عناصر اندازه‌گیری شده در ریشه (آزمایش گلدانی) ..... ۱۵۶
پیوست ۱۰- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای) ..... ۱۵۶
پیوست ۱۱- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و قارچ‌های میکوریزا بر درصد همزیستی با ریشه (آزمایش گلدانی) ..... ۱۵۷

# فصل اول

## مقدمه

با توجه به افزایش سریع جمعیت جهان و نیاز مبرم و روز افزونی که صنایع داروسازی کشور به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه دارو دارند و نیز بهبود سطح کیفی زندگی، توجه و تحقیق پیرامون گیاهان دارویی ضروری است. لزوم مطالعه و بررسی راهکارهای مختلف جهت افزایش کمیت و کیفیت مواد موثر گیاهان دارویی از اهمیت بالایی برخودار است. در بین گیاهان دارویی، سیاهدانه یکی از گیاهان دارویی است که دانه آن حاوی روغن، پروتئین، آلکالوئیدهایی همانند نیجلیسین، کینون‌ها (همانند تیموکینون) و ساپونین است. در طب سنتی برای چند بیماری استفاده می‌شود که از جمله به‌عنوان ضد کرم، آسم، دیابت، سرفه بوده و ادرار آور و شیر افزاست (ضیایی و همکاران، ۱۳۹۱).

در گیاهان دارویی اگر چه ساخت مواد مؤثره به صورت ژنتیکی کنترل می‌شوند، اما تولید آنها تا حد زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی نیز قرار می‌گیرد. به‌طوری که عوامل محیطی علاوه بر تأثیر بر رشد و نمو در کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نیز موثرند.

حاصلخیزی خاک از جمله عامل‌هایی محسوب می‌شود که تأثیر مثبتی بر کیفیت و کمیت محصول نهایی دارد (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۶۸). با توجه به مصرف بی‌رویه نهاده‌های شیمیایی در کشاورزی متداول در طی چند دهه اخیر، به‌عنوان ساده‌ترین روش در ایجاد حاصلخیزی و تامین نیاز گیاهان، امروزه مشکلات زیست محیطی بسیار زیادی در طبیعت به‌وجود آمده است. در این میان می‌توان به معضلاتی نظیر آلودگی منابع آب و خاک، کاهش کیفیت محصولات غذایی و برهم خوردن تعادل زیستی در محیط خاک که صدمات جبران ناپذیری به اکوسیستم‌ها وارد می‌سازد، اشاره کرد. انتخاب روش‌هایی جایگزین کودهای شیمیایی به‌ویژه در تولید گیاهان دارویی که به‌طور مستقیم با سلامت انسان در ارتباط هستند با هدف بهبود کمیت و کیفیت ماده موثره آنها بسیار حائز اهمیت است.

کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای زیستی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف نهاده‌های شیمیایی، یک راه حل مطلوب برای غلبه بر این مشکلات به‌شمار می‌آید. در واقع استفاده

از کودهای زیستی یکی از راهکارهای مؤثر در حفظ کیفیت مطلوب خاک محسوب شده که باعث افزایش واکنش‌های مفید بین گیاه و میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر می‌شود و همچنین توان گیاه را برای جذب بیشتر عناصر غذایی افزایش می‌دهد (کوکالیس بورله و همکاران، ۲۰۰۶).

از جمله کودهای زیستی می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه اشاره کرد. این گروه از باکتری‌ها در منطقه ریزوسفر، از طریق مکانیزم‌های مختلفی باعث افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شوند. (وسی، ۲۰۰۳). یکی از مکانیزم‌های مستقیم تأثیرگذار تولید فیتوهورمون‌هایی از قبیل اکسین، سیتوکنین، جیبرلین و جلوگیری از تولید هورمون اتیلن می‌باشد (وسی، ۲۰۰۳). سایر مکانیزم‌هایی که به‌وسیله آنها باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب بهبود رشد در شرایط متفاوت محیطی و تنش‌ها می‌شوند، عبارتند از بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، توسعه سیستم ریشه و جلوگیری از ریزش اندام هوایی، افزایش گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن مولکولی است (رنات و همکاران، ۲۰۰۴). گروهی از این گونه‌های باکتریایی که دارای قابلیت همیاری با گیاه هستند متعلق به جنس ازتوباکتر (*Azotobacter* spp.) و آزوسپریلیوم (*Azospirillum* spp.) می‌باشند (تیلاک و همکاران، ۲۰۰۶). باکتری‌های جنس ازتوباکتر و آزوسپریلوم از مهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن، با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای از هورمون‌های تحریک کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند (کریمی و سیدیکو، ۱۹۹۱).

قارچ‌های میکوریزا نیز به عنوان جزء کلیدی در بوم نظام اثرات مثبتی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان همزیست دارند. قارچ‌های میکوریزا آربسکولار (AM) متعلق به شاخه (Glomeromycota) هستند (بارئا و جفریس، ۱۹۹۵)، که همزیستی متقابل با اکثریت گیاهان برقرار می‌کنند (جفریس و بارئا، ۲۰۰۱). افزایش سطح فعال سیستم ریشه گیاه برای جذب بهتر مواد غذایی از خاک، خصوصا در شرایط کمبود فسفر (کاپور و همکاران، ۲۰۰۴)، افزایش فتوسنتز، افزایش مقاومت به تنش‌های خشکی، شوری و مقاومت به آفات و بیماری‌ها (پینیور و همکاران،

۲۰۰۵)، بهبـــود ســـاختمان خـــاک از نقش این قـارچ در بوم نظام‌های زراعی می‌باشد (کلیک و همکاران، ۲۰۰۴). در طی برقراری همزیستی آربسکولار میکوریزا، طیفی از شاخص‌های شیمیایی و بیولوژیکی در گیاهان تحت تاثیر قرار می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به الگوی ترکیبات ثانویه گیاهان اشاره کرد. تجمع فلاونوئیدها، مشتقات سیکلوهگزان و آپوکارتنوئیدها (مایر، ۱۹۹۵)، فیتوآلکسین‌ها (دوی، ۲۰۰۲)، ترکیبات فنولیک (آکیاما، ۲۰۰۲)، تری ترپنوئیدها (ویرهیلیگ و همکاران، ۲۰۰۰) و گلوکوزینولات‌ها (اسمیت و رد، ۱۹۹۷) در گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریز آربسکولار گزارش شده است.

گام موثر دیگر جهت دستیابی به کشاورزی پایدار و سازگار با محیط زیست استفاده از نانو کودها به‌منظور کنترل دقیق آزادسازی عناصر غذایی در محیط زیست می‌باشد. استفاده از نانوکودها منجر بـه افـزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک، به حداقل رساندن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود و کـاهش تعـداد دفعـات کاربرد کود می‌شود. با بکارگیری نانوکودها، زمان و سرعت رهاسـازی عناصر با نیاز غذایی گیاه مطابق و هماهنگ می‌شود، لذا گیاه قادر بـه جذب بیشترین مقدار مـواد غـذایی بـوده و در نتیجـه ضـمن کـاهش آبشویی عناصر، عملکرد محصول نیز افـزایش مـی‌یابـد (دروسا، ۲۰۱۰).

علم و فناوری نانو ساختارها، یکی از زمینه‌های مهـم تحقیقـاتی و کاربردی است که در سال‌های اخیر اهمیت ویژه‌ای یافته است. مواد نانو ساختار، به هر مـاده‌ای کـه حـداقل یکـی از ابعـاد آن در مقیـاس نانومتری (زیر ۱۰۰ نانومتر) باشد اطلاق مـی‌شـود. در ایـن مقیـاس کوچک و اتمی، خصوصیات و رفتارهای جالب و قابـل توجـه مـواد از جملـه واکـنش پـذیری و تحـرک بـالا، خصوصـیات خـود کنترلـی و هوشمندی مشاهده می‌شود که دلیل اصلی آن سطح ویژه بالای مواد در این مقیاس می‌باشد. از جمله ویژگی‌های جالب توجـه دیگـر نـانو مواد، سبک و کوچک بودن، استفاده در مقادیر کم، چند کاربردی بودن و صرفه جویی در مواد مصرفی اسـت (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۳). با اسـتفاده از نـانو ذرات و نانو کپسول‌ها می‌توان کودهایی با رهایش کنترل شده تولیـد نمود. جذب

کودهایی که با این ابعاد تولید می‌گردند، راحت‌تر شـده و نسبت به کودهای رایج تأثیر بیشتری دارند. عـلاوه بـر آن مـی‌تـوان کودهای شیمیایی زیست سازگار ایجاد کرده و از آلودگی محیط زیست و شوری بیش از حد خاک جلوگیری کرد (رنجبر و شمس، ۱۳۸۸).

گیاهان دارویی برای رشد و تولید مواد موثره به مقادیر مناسبی از ریزمغـذی‌هـا نیـاز دارنـد (لیلاح و همکاران، ۱۹۸۸). عناصر کم‌مصرف در گیاهان به مقـدار کـم مـورد استفاده قرار می‌گیرند اما آثار مهمی بر جای می‌گذارند. این عناصر در صورت کمبود می‌توانند گاهی بـه‌عنـوان محدودکننـده رشـد و جذب سایر عناصر غذایی عمل کنند. همین امر لزوم توجه بیـشتر به کاربرد آنها را مشخص می‌سازد (ملکوتی، ۱۳۷۹). گیاهان در بین همه ریز مغذی‌ها، بیش‌ترین نیاز را به آهن دارند. آهن به‌عنوان کاتالیزور در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیاء دخالت دارد، همچنین برای سنتز کلروفیل نیز مورد نیاز است (تایز و زایگر، ۱۳۸۱). آهن عنصر کلیدی در متابولیسم سلولی می‌باشد و در ساختار مولکول سیتوکروم نقش دارد، به‌طوری که در شرایط کمبود آهن، فتوسنتز به شدت کاهش می‌یابد. علاوه بر این، آهن در فرآیند تنفس، تبادل مواد در گیاهان شرکت دارد (رشنو و همکاران، ۱۳۹۱). قابل توجه است که افزودن آهن در فرم‌های غیر کلات به خاک‌ها مخصوصا در خاک‌های آهکی ایران تأثیر زیادی در فراهم آوردن آهن برای گیاه و میکروارگانیسم‌های خاک ندارد. چرا که آهن آزاد به سرعت هیدراته شده و به‌صورت هیدروکسیدهای آهن رسوب می‌کند (بنائی و همکاران، ۲۰۰۵).

گزارشات زیادی در رابطه با صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی بخش هوایی که به بهبود عملکرد در گیاهان منجر می‌شود، وجود دارد. اما همان‌طوری که به گزینی و اصلاح برای خصوصیات مربوط به اندام هوایی باعث افزایش عملکرد می‌شود، انجام مطالعات در مورد ریشه نیز می‌تواند سبب شناخت عوامل موثر بر افزایش عملکرد شده و در شرایط بحرانی تنش، موفقیت تولید را تضمین نماید (وانگ و همکاران، ۲۰۰۲). با اندازه‌گیری رشد ریشه همچنین می‌توان به میزان کل کربنی که برای ساختمان، نگهداری و جذب یون‌ها در اندام زیرزمینی صرف شده است پی برد. برقراری ارتباط بین بخش

زیرزمینی و بخش هوایی در مدیریت کشاورزی اهمیت دارد و به‌نظر می‌رسد داشتن یک سیستم ریشه‌ای گسترده و قوی از لحاظ استفاده بهینه ریشه از بخش‌های وسیع‌تری از خاک و افزایش نقاط جذب آب و عناصر غذایی برای گیاه ضرورت دارد (باتس و لینچ، ۲۰۰۰).

بنابراین، با توجه بـه اهمیت افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سیاهدانه و با در نظر گرفتن اهمیت مـدیریت اکولوژیکی این گونه‌های گیاهی، این آزمایش به‌منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی (تلقیح با باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزی) به‌همراه محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد کمی و برخی خصوصیات کیفی بذر سیاهدانه اجرا و اهداف زیر دنبال شد:

- بررسی و مقایسه عملکرد کمی و صفات فیزیولوژیکی و نیز تغییرات ریشه گیاه دارویی سیاهدانه در غلظت‌های مختلف آهن به فرم نانو
- بررسی و مقایسه عکس العمل گیاه دارویی سیاهدانه به همزیستی با گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در شرایط محلول‌پاشی نانو اکسیدآهن

**فرضیه‌ها:**

- محلول‌پاشی عنصر آهن به فرم نانو به همراه کاربرد کودهای زیستی می‌تواند سبب افزایش و بهبود خصوصیات کمی و کیفی در گیاه دارویی سیاهدانه شود.
- در بین کودهای زیستی، گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا می‌توانند میزان ماده موثره سیاهدانه را در غلظت‌های بالای نانو آهن بهتر از باکتری‌های محرک رشد افزایش دهند.

# فصل دوم

## کلیات و بررسی منابع

## ۲-۱ - سیاهدانه

سیاهدانه با نام علمی *Nigella sativa*، گیاهی است علفی، یکساله، متعلق به راسته آلاله Ranunculales و تیره Ranunculaceae است. مبدا سیاهدانه احتمالا غرب آسیا بوده و از آنجا به سایر نقاط دنیا راه پیدا کرده و حدود ۲۵۰۰ سال است که توسط بشر مورد استفاده قرار می‌گیرد. امروزه این گیاه نه تنها در آسیای مرکزی و جنوبی، بلکه در غرب نیز آن را می‌شناسند و عمده‌ترین مصرف کنندگان آن ایران، هند، لبنان و ترکیه هستند. در مناطق مختلف جنوب غرب آسیا، اروپا و شمال آفریقا بومی شده و کشت می‌شود (توکلی صابری، ۱۳۶۶).

## ۲-۲ - خصوصیات گیاه‌شناسی سیاهدانه

سیاهدانه گیاهی علفی، یکساله و به ارتفاع ۲۰ تا ۵۰ سانتی‌متر (بسته به شرایط محیطی) می باشد. ساقه آن سبز و گرد به قطر ۲ تا ۵ میلی‌متر، برگ‌ها اکثرا متناوب و غالبا با بریدگی‌های بسیار زیاد، گل‌ها منفرد و اکثرا دو جنسی با پرچم زیاد و دارای پنج گلبرگ با پهنای حدود ۲/۵ تا ۳ سانتی متر به رنگ سفید مایل به سبز و سفید مایل به آبی دیده می‌شوند. میوه از نوع کپسول و معمولا پنج قسمتی (البته ۲، ۳ و ۴ قسمتی نیز دیده می‌شود) که در انتهای هر قسمت به یک زائده خار مانند ختم می‌شود. کپسول‌ها بعد از رسیدگی باز شده و دانه‌ها به اطراف پراکنده می‌شوند (پویان، ۱۳۶۹). دانه‌های سیاهدانه کوچک با وزن هزار دانه ۱ تا ۲/۵ گرم به رنگ سیاه مات با گوشه‌های تیز و یک بخش داخلی چرب و سفید هستند که شباهت زیادی به دانه‌های پیاز دارد. دانه‌ها منشوری شکل، گرد یا سه وجهی بوده و سطحی ناصاف دارند (توکلی صابری، ۱۳۶۶).

شکل ۲-۱- گیاه سیاهدانه

## ۲-۳ - ترکیبات شیمیایی سیاهدانه

در هر کیلوگرم سیاهدانه، ۲۱۶ گرم پروتئین، ۴۰۶ گرم چربی، ۴۵ گرم خاکستر، ۸۴ گرم فیبر، ۲۴۹ گرم عصاره بدون نیتروژن، ۳۸ گرم رطوبت، ۱۰۵ میلی گرم آهن، ۱۸ میلی‌گرم مس، ۶۰ میلی-گرم روی، ۵۲۷ میلی‌گرم فسفر، ۱۸۶۰ میلی‌گرم کلسیم، ۱۵/۴ میلی‌گرم تیامین، ۵۷ میلی‌گرم نیاسین، ۵ میای‌گرم گیرودوکسین و ۱۶۰ میکروگرم فولیک اسید وجود دارد (تاکروری و دمه، ۱۹۹۸) و به‌طور کلی ۳۸-۳۶ درصد روغن، پروتئین، آلکالوئید، ساپونین و ۲/۵-۰/۴ درصد اسانس از آن تهیه می‌شود.

در بررسی اسانس آن با GC-Mass، اصلی ترین ماده تیموکینون (۵۷-۲۷/۸ درصد) و بعد از آن به ترتیب پارا-سیمن (۱۵/۵-۷/۱ درصد)، کارواکرول (۱۱/۶-۵/۸ درصد) و لونجیفولن (۸-۱ درصد) مشخص شده است (ال-دخاخنی و همکاران، ۲۰۰۰). هشت نوع آمینو اسید در پروتئین‌های موجود در سیاهدانه شناخته شده است. مونوساکاریدها در شکل گلوکز، رامنوز، گزیلوز، آرابینوز در سیاهدانه موجود هستند (عمر و همکاران، ۱۹۹۹).

روغن سیاهدانه متشکل از دو فسفولیپید شامل: فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل تانولامین و فسفاتیدیل سرین، فسفاتیدیل نیستیل و اسیدهای چرب غیر اشباع (۸۳ درصد) شامل: اسید لینولئیک (۵۷ درصد) و اسید اولئیک (۲۴ درصد) ، لیکنوسریک، لینولنیک و پالمیتولئیک (۰/۳ درصد) از

عصاره سیاهدانه گزارش شده است (هافمن، ۲۰۰۳).

## ۲-۴ - نیاز اکولوژیکی و زراعی سیاهدانه

سیاهدانه گیاهی است روز بلند و زمان کاشت آن بسته به شرایط آب و هوایی به‌طور معمول اسفند ماه یا اوایل بهار می‌باشد و نیاز به یک دوره سه ماهه برای رشد و نمو دارد. حداقل درجه حرارت لازم برای جوانه زنی آن را ۷/۸ درجه سانتی‌گراد، حرارت مطلوب ۱۳درجه سانتی‌گراد و حداکثر دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد، اسیدیته خاک ۵/۶، اسیدیته مطلوب ۶/۹ و حداکثر اسیدیته ۸/۲ به‌عنوان شرایط مطلوب برای رشد سیاهدانه می‌باشد (دوک، ۱۹۸۲).

این گیاه در مناطقی پرورش می‌یابد که حداقل بارندگی سالانه به میزان ۱۳۰ میلی‌متر، بارندگی مطلوب ۷۹۰ میلی‌متر و حداکثر بارندگی ۱۵۳۰ میلی‌متر باشد. به‌طور کلی می‌توان میزان بارندگی ۴۰۰ میلی‌متر در سال را برای این گیاه مناسب دانست (بابایی، ۱۳۸۴). نیاز آبی گیاه در خاک‌های مختلف متفاوت می‌باشد به این ترتیب که در خاک‌های سبک دوره آبیاری کوتاه و هر چهار روز یک بار و در خاک‌های سنگین هفته‌ای یک بار انجام می‌شود. البته بنا به فصول، در بهار نسبت به تابستان فواصل آبیاری طولانی‌تر می‌باشد (بابایی، ۱۳۸۴).

کودهای مورد نیاز سیاهدانه نیتروژن و فسفر هستند. مصرف کودهای اوره و $P_2O_5$ با هم بیشترین میزان محصول را در گیاه تولید می‌کنند و با به کار بردن ۶۰ کیلوگرم نیتروژن و ۳۰ کیلوگرم از کود $P_2O_5$ در هکتار بهترین میزان عملکرد حاصل می‌شود (داس و همکاران، ۱۹۹۱). بایستی مقدار نیمی از نیتروژن و تمام کود فسفر را در هنگام کاشت به کار برد و باقیمانده کود نیتروژن یک ماه پس از کاشت به‌صورت کود سرک استفاده شود.

## ۲-۵ - کاربرد سیاهدانه

### ۲-۵-۱ - اثر داروشناسی

مطالعات زیادی در مورد خواص عصاره سیاهدانه، روغن، اسانس یا ترکیبات آن همانند تیموکینون

صورت گرفته است و اثراتی مانند خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد اکسیمی، ضد درد و التهاب، ضد سرفه، ضد سرطان، کاهش فشار خون، تأثیر مثبت بر سیستم قلبی و عروقی، اثر ضد میکروبی و انگلی، ضد دیابت، اثر بر سیستم ایمنی، شل کننده عضلات صاف و ضد تشنج در بدن انسان به عنوان خواص این گیاه دارویی به اثبات رسیده است (ضیائی و همکاران، ۱۳۹۱).

### ۲-۵-۲ - محصولات در بازار

محصولات متعددی از آن در بازارهای جهانی وجود داشته و مصرف می‌شوند؛ از آن جمله می‌توان کرم‌های ضد قارچ، ضد باکتری، شل کننده عضلات، ضد آکنه، ضد گزش حشرات، ضد سوختگی، ترمیم کننده بریدگی‌ها، جوش‌ها و زخم‌ها، پاک کننده‌ها، لایه بردار و روشن کننده نام برد. صابون نرم کننده و تمیز کننده نیز تهیه شده است. مصرف چهار هفته‌ای کپسول‌های حاوی روغن سیاهدانه باعث کاهش کلسترول شده از خطر بیماری التهاب روده می‌کاهد. برای سرماخوردگی، سردرد، آنفولانزا، دردهای مفصلی، دندان درد، زکام، ورم لوزه، رگ به رگ شدگی، کوفتگی، نیز در بازار مرهم سیاهدانه وجود دارد. چای سیاهدانه به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در فروشگاه‌ها یافت می‌شود. شامپوی سیاهدانه و روغن ۱۰۰ درصد خالص آن در بازارهای جهانی موجود است. کپسول حاوی پودر سیاهدانه جهت افزایش حافظه، افزایش فعالیت سیستم ایمنی، افزایش سلامتی، کاهش فشار خون و قند خون تجویز می‌شود (ضیائی و همکاران، ۱۳۹۱).

## ۲-۶ - سیاهدانه در ایران

سیاهدانه یکی از محصولات عمده دارویی ایران است که به لحاظ کاربرد فراوان در صنایع دارویی و غذایی کشت این گیاه در مناطق ویژه‌ای از ایران رواج دارد که نقش برجسته‌ای را در اقتصاد مردم این مناطق ایفا می‌کند. لذا بررسی اقتصادی این گیاه به لحاظ هزینه‌های تمام شده تولید و مزیت نسبی تولید و صادرات آن از اهمیت به سزایی در برنامه‌ریزی‌های کلان مملکی برخوردار است. پس از محاسبه هزینه‌های تمام شده تولید در هر یک از استان‌های تولید کننده سیاهدانه در کشور، اقدام به مقایسه و رتبه بندی آنها گردید که در این میان استان چهارمحال و بختیاری با هزینه‌های تمام شده

کمتر، در رتبه اول و پس از آن اصفهان در رتبه دوم قرار گرفت.

## ۲-۷ - عناصر غذایی در گیاهان

گیاهان حاوی بیش از ۹۰ عنصرند اما فقط ۱۶ عنصر برای آنها ضروری است. عناصر ضروری، براساس نیاز کمی به دو گروه تقسیم می‌شوند. دسته‌ای که گیاهان نیاز بیشتری به آنها دارند به عنوان عناصر پرمصرف و دسته‌ای که نیاز کمتری دارند، جزء عناصر غذایی کم‌مصرف طبقه بندی می‌شوند. عناصر پر مصرف شامل: کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و گوگرد و عناصر غذایی کم‌مصرف (ریزمغذی)، شامل: آهن، منگنز، بُر، روی، مس، مولیبدن و کلر می‌باشند. طبقه‌بندی عناصر غذایی به پر مصرف و کم مصرف، براساس مقادیر مورد نیاز گیاهان است و گرنه، همه عناصر غذایی برای رشد گیاهان از اهمیت یکسانی برخوردارند. در صورتی که کمبود هر یک از عناصر غذایی برای رشد گیاهان اتفاق بیافتد، گیاهان متحمل خسارت خواهند شد (خدابنده، ۱۳۹۲). بنابراین عناصر غذایی کم مصرف نیز از اهمیت بسزایی در تغذیه گیاهان به‌شمار می‌روند.

از طرفی، تأمین عناصر غذایی در گیاه دارویی می‌تواند نقش مهمی در افزایش کیفیت و کمیت ماده‌ی مؤثره آنها داشته باشد. در این میان اهمیت عناصر پرمصرف از قبل مشخص بوده اما نقش عناصر کم‌مصرف تا حدی ناشناخته مانده و کاربرد آنها کمتر مورد توجه قرار گرفته است (حیدری و همکاران، ۱۳۸۷).

### ۲-۷-۱ - عناصر غذایی کم مصرف در گیاهان

عناصر کم‌مصرف با وجود نیاز اندک نقش به‌سزایی در واکنش‌های آنزیمی، فرآیندهای متابولیکی و مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی دارند. این عناصر شرایط عمومی گیاهان را بهبود می‌بخشند و به‌عنوان کاتالیزور در واکنش‌های بیوشیمیایی شرکت می‌کنند (محمودی و حکیمکیان، ۱۳۷۹ و پاتیل و همکاران، ۲۰۰۸). گر چه عناصر کم‌مصرف به مقدار کمی در واحد سطح به‌کار می‌روند ولی با تأثیر فراوان بر جذب عناصر غذایی پر مصرف و بهبود خواص کمی و کیفی محصول از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۸۴).

یکی از مهم‌ترین نقش‌های عناصر ریزمغذی، توازن در فعالیت‌های فیزیولوژیکی است که در نهایت سبب افزایش فعالیت‌های سیستم ایمنی می‌شوند (نریمانی و همکاران، ۲۰۱۰). این عناصر همچنین نقش مهمی در تقسیم سلول و توسعه بافت‌های مریستمی، فتوسنتز، تنفس و افزایش سرعت رسیدن گیاهان دارند (زیدان و همکاران، ۲۰۱۰). تأثیر مثبت ریزمغذی‌ها بر عملکرد ماده خشک ممکن است به‌دلیل افزایش بیوسنتز اکسین، افزایش غلظت کلروفیل، بالا رفتن فعالیت فسفواینول پیروات کربوکسیلاز و ریبولوزبی‌فسفات کربوکسیلاز، کاهش تجمع سدیم در بافت‌های گیاهی و افزایش کارایی جذب نیتروژن و فسفر باشد (راوی و همکاران، ۲۰۰۸).

**۲-۷-۲ - آهن**

**۲-۷-۲-۱ - اهمیت کاربرد عنصر آهن در تغذیه گیاهان زراعی و باغی**

گیاهان در بین همه ریز مغذی‌ها بیشترین نیاز را به آهن دارند، زیرا این عنصر بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیاست. با اینکه آهن چهارمین عنصر فراوان در پوسته زمین است و میزان آن در خاک بین ۱ تا ۲۰ درصد است اما بیشترین محدودیت را برای تولید محصولات کشاورزی ایجاد می‌کند (گراهام و ولج، ۲۰۰۰). چون خاک‌های ایران به‌دلیل داشتن مقادیر قابل توجهی از کربنات‌ها، سولفات‌های کلسیم و منیزیم عمدتاً دارای pH قلیایی و بالاتر از ۷/۸ و در صورت وجود نمک‌های سدیمی در خاک بالاتر از ۸ و یا ۸/۵ می‌باشند. به دلیل بالا بودن pH، یون‌های OH فراوانی در خاک وجود دارند که سبب رسوب عنصر آهن به شکل هیدروکسیدهای آهن می‌شوند. از طرف دیگر در بیشتر نقاط کشور، به‌دلیل وجود مقادیر قابل توجهی از کربنات‌های کلسیم و منیزیم در خاک، مقادیر بالایی بی‌کربنات در محلول خاک وجود دارد که سبب رسوب آهن و غیرفعال شدن این عنصر می‌شود. حتی وجود یون بی‌کربنات باعث افزایش pH آپوپلاست برگ شده و منجر به تثبیت یون آهن به‌صورت یون هیدروکسید و فسفات آهن می‌شود. این پدیده پیش از عبور آهن از غشای سیتوپلاسمی صورت می‌گیرد (بنفیت و اسچیفر، ۱۹۹۲). وجود آهک آزاد در خاک که گاهی بیش از ۸ درصد از حجم خاک را تشکیل می‌دهد سبب شده تا خاک در تعادل با $CO_2$ محلول

دارای pH برابر ۷/۵ یا بالاتر باشد. این امر سبب غیر فعال شدن و رسوب آهن می‌گردد. علاوه بر این‌ها کمبود ماده آلی، شوری خاک، خشکی، آبیاری سنگین و تهویه ضعیف خاک از عوامل کمبود عنصر آهن در خاک می‌باشند (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۸۴). مصرف بی‌رویه کودهای نیتروژنه و فسفاته باعث آلودگی آب، خاک و همچنین بالا رفتن غلظت فسفر در خاک‌ها شده که مشکلات عدیده‌ای از جمله ممانعت از جذب عناصر کم‌مصرف را به‌وجود آورده است (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۸۴). بنابراین میـزان در دسـترس بودن آهن در خاک و جذب آن توسط ریشه گیاه بستگی زیادی به اسیدیته، شرایط اکسیداسیونی و احیایی خاک و شکل محلـول آهـن دارد (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۸۴).

آهن در خاک از طریق انتشار و حرکت توده‌ای و عمدتاً به‌صورت آهن فریک ($Fe^{3+}$) منتقل و زمانی که وارد گیاه می‌شود، به فرم آهن فرو ($Fe^{2+}$) احیا و سپس توسط ریشه جذب می‌گردد (پیس و بنتون جونز، ۱۹۹۷). به‌طور کلی گیاهان از دو استراتژی مشخص در محلول نمودن و جذب آهن در خاک استفاده می‌کنند (مارشنر و همکاران، ۱۹۸۶). دسته‌ای از گیاهان شامل گیاهان دو لپه‌ای و تک لپه‌ای‌های غیر گرامینه‌ای می‌توانند کمپلکس‌های $Fe^{3+}$ را در سطح ریشه احیا و $Fe^{2+}$ حاصله را در نزدیک ریشه جذب نمایند. دسته دیگری از گیاهان که شامل گرامینه‌ها هستند، می‌توانند از طریق ترشح لیگاندهای آلی با وزن مولکولی کم، قابل ترکیب با آهن، به نام سیدروفور، یون‌های $Fe^{3+}$ را حل نموده و آن‌ها را برای جذب آماده سازند (ضیائیان، ۱۳۸۲).

در گیاهان دو گروه مهم از پروتئین‌های حاوی آهن وجود دارد، پروتئین‌های هم و پروتئین‌های غیر هم (پروتئین‌های آهن- گوگردی). پروتئین‌هایی هم شامل سیتوکروم‌های مختلف هستند. معروف‌ترین پروتئین آهن -گوگرد فرودکسین است. پروتئین‌های آهن-گوگرد در فرآیندهای سوخت و ساز نظیر فتوسنتز، تنفس و تثبیت نیتروژن دخالت دارند. آهن تعدادی از آنزیم‌ها را فعال ساخته و نقش مهمی در سنتز RNA دارد. نقش عمده آهن در سنتز پروتئین‌های همراه با کلروفیل است، کمبود آن سبب کاهش محتوی کلروفیل می‌شود (ضرابی مافی و همکاران، ۱۳۹۲). در اثر کمبود آهن، غلظت کلروفیل و دیگر رنگیزه‌های گیاهی نظیر کاروتن و گزانتوفیل کاهش می‌یابد. آهن در

فعال ساختن حامل‌های الکترون هر دو فتوسیستم مؤثر است. در اثر کمبود آهن فتوسنتز شدیداً کاهش می‌یابد (مارشنر، ۱۹۹۵).

آهن در همه موجودات زنده به‌عنوان یک کورفـاکتور مهـم در مسیرهای متابولیک زیستی نقش تعیـین کننـده‌ای دارد (بیکر و اش، ۲۰۰۴). عنصر آهن به‌عنوان عامل اکسایش و کاهش در بخشی از ساختمان ناقل‌هایی که در ترا فرستی الکترون دخالت دارند، نظیر سیتوکروم‌ها و پروتئین‌های غیر هم که در فتوسنتز، تنفس و تثبیت ازت نقش دارند وجود دارد (تایزو زایگر، ۱۳۸۱). نقش این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی آنزیم‌ها، نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (رویز و همکاران، ۲۰۰۰).

در مطالعه سطوح و روش مصرف سولفات آهن در خاک‌های آهکی نشان داده شد، مصرف ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آهن به‌صورت پخش سطحی همراه با محلول‌پاشی سبب افزایش ۵۲ درصدی عملکرد کلزا نسبت به شاهد گردید (حقیقت‌نیا و رجایی، ۱۳۸۲). نتایج تحقیقی نشان داد، محلول‌پاشی ۶ کیلوگرم در هزار لیتر آب سولفات آهن منجر به حداکثر توأم وزن و عملکرد دانه گشنیز می‌شود که همبستگی این دو صفت بسیار بالاست (گولن، ۱۹۹۵). در مطالعه‌ای دیگر حقیقت نیا و رجایی (۱۳۸۲) بیان نمودند تأثیر میزان و روش مصرف عناصر میکرو به‌ویژه آهن بیانگر نقش مثبت آنها در افزایش میزان عملکرد دانه و میزان عملکرد اقتصادی بوده و نقش مصرف آهن به‌صورت محلول‌پاشی بیشتر است. کیخا و همکاران (۱۳۸۴) با مطالعه زمان‌های مختلف محلول‌پاشی آهن در ارقام کلزا بیان نمودند، محلول‌پاشی آهن در دو مرحله آغاز گلدهی و پس از گلدهی نسبت به تک مرحله گلدهی سبب افزایش عملکرد دانه می‌شود. تحقیقی که توسط سانگال و همکاران (۱۹۸۱) گزارش شد، نشان داد که عملکرد دانه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی بُر با غلظت ۰/۲ درصد، سولفات آهن با غلظت ۰/۴ درصد، سولفات روی با غلظت ۰/۵ درصد افزایش یافت.

بر اساس مطالعات انجام شده کاربرد کود آهن می‌تواند بر ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه مثل عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس، درصد عناصر در اندام‌های هوایی و میزان رنگدانه‌های

فتوسنتزی مؤثر باشد. در این راستا مطالعات در نعناع فلفلی نشان داد محلول‌پاشی آهن در مقایسه با تیمار شاهد، عملکرد اسانس را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (یریتسیان و اکونومیکس، ۲۰۰۲). در بررسی دیگری روی گیاه مرزنجوش گزارش شده است که افزایش آهن خاک تا حد ۱۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، سبب کاهش محتوای اسانس گیاه شد (پیوندی و همکاران، ۱۳۹۰). محلول‌پاشی و مصرف خاکی کلات آهن میزان آنتوسیانین برگ گیاه گلرنگ را در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (قربانپور، ۲۰۱۵). در خصوص تأثیر مصرف عنصر آهن در جذب سایر عناصر گزارش شده است که با مصرف آهن در بادام زمینی‌هایی که دچار کمبود آهن بودند، مقدار عناصر پتاسیم، کلسیم، منگنز و روی در اندام هوایی افزایش و مقدار فسفر آن کاهش یافت. مصرف آهن در خاک‌های آهکی، علاوه بر اثرگذاری روی غلظت عناصر در گیاه، شاخص‌هایی از جمله مقدار روغن و پروتئین دانه بادام زمینی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (زهاریوا، ۱۹۸۶).

**۲-۷-۲-۲ - علائم کمبود و بیشبود آهن در گیاهان**

در اثر کمبود عناصر غذایی در محیط رشد، گیاهان علایمی از خود نشان می‌دهند، از این علایم می‌توان به کمبود آن عناصر پی برد. به‌طور مثال اگر گیاهی قادر به جذب آهن به مقدار کافی نباشد، سبزینه (کلروفیل) در برگ‌ها کاهش می‌یابد. بدین ترتیب برگ‌ها رنگ پریده خواهند شد. در این حالت، ابتدا فاصله بین رگبرگ‌ها و سپس با شدت یافتن کمبود، به جز رگبرگ‌ها، تمام سطح برگ زرد می‌شود (برگمن، ۱۹۹۲). از آن جا که آهن در گیاه پویا نیست (غیر متحرک است)، این علائم ابتدا در برگ‌های جوان و در قسمت بالای ساقه مشاهده می‌شود و با تشدید یافتن کمبود، تمامی گیاه را در بر می‌گیرد. گاهی در اواخر بهار که سرعت رشد گیاه زیاد است، به‌علت تکافوی جذب آهن، برگ‌ها زرد رنگ می‌شوند سپس با کاهش سرعت رشد، رنگ برگ‌ها به تدریج سبز و دوباره در اواخر تابستان با تشدید رشد رویشی، علائم کمبود آهن یعنی زردی رنگ برگ‌ها مجدداً بروز می‌کند (برگمن، ۱۹۹۲).

نکته مهمی که در ارتباط با مصرف کودهای عناصر کم مصرف وجود دارد آن است که مرز بین میزان مورد نیاز و حد مسموم کننده برای گیاه بسیار باریک است. به عبارت دیگر مصرف زیاد این

کودها باعث مسمومیت گیاه می‌شود (خواجه‌پور، ۱۳۶۳). افـزایش غلظت آهن محلول در خاک ممکـن اسـت سـمیت آهـن را در گیاهان ایجاد نماید. مکانیسم اصلی که سمیت عناصر را در گیاهان القا مـی‌کنـد، تولید گونه‌هـای فعـال اکـسیژن یـا ROS مـی‌باشـد کـه شـامل، اکسیژن، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید می‌باشد (لاسپینا و همکاران، ۲۰۰۵). رادیکال‌هـای آزاد پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل می‌توانند کلروفیل را اکسید نماینـد و بـا ازدیـاد سـمیت باعـث انباشتگی آهن در کلروپلاست و ایجاد اختلال در انتقال الکترون فتوسنتزی شوند. همچنین ممانعت از چرخـه کلـوین بـه‌وسـیله آهن اضافی موجود در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی ممکـن است باعث کاهش نسبت کربوکسیلاسیون بـه اکـسیژناسیون در واکنش‌های روبیسکو و افزایش تنفس نوری شود (کامفنکل و منتاگو، ۱۹۹۵). گیاهـان دارای مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمـی بـرای پـالایش ROS هـستند کـه مکانیـسم آنزیمـی آنها شـامل کاتـالاز، پراکـسیداز،آسـکوربات پراکـسیداز، سوپراکـسید دیـسموتاز و گلوتـاتیون ردوکتاز و مکانیسم غیر آنزیمی آن شامل گلوتاتیون، آسکوربات و کاروتنوئیدها می‌باشد (تیریاکیگلو و همکاران، ۲۰۰۶).

علائم مشخص سمیت آهن با فرآیندهای تولید رادیکال‌های آزاد، اکسید شدن کلروفیل و به‌خصوص تجمع پلی‌فنل‌های اکسید شده مرتبط می‌باشد. این نشانه‌ها معمولاً می‌توانند در مراحل مختلف رشد مانند جوانه‌زنی، رشد رویشی و حتی در مرحله زایشی در گیاه بروز کنند (بیکر و اش، ۲۰۰۴). نشانه های مشخص سمیت آهن معمولاً به‌صورت لکه‌های قهوه‌ای ریزی است که از نوک برگ به طرف پایه برگ‌ها گسترش پیدا می‌کند و در نهایت منجر به خشک شدن آن می‌شود. به علاوه در سمیت آهن ریشه کم، کوتاه، کلفت و خشن می‌شود (بیکر و اش، ۲۰۰۴). اگرچه سمیت در جوانه‌زنی و یا مراحل ابتدایی رویش می‌تواند شدیداً بر رشد تأثیرگذار باشد و در نتیجه محصول کاملاً از بین برود. در بعضی مواقع نیز کاهش محصول تا ۳۰ درصد بدون آنکه نشانه‌های برگی دیده شود رخ می‌دهد (بیکر و اش، ۲۰۰۴).

## ۲-۸ - محلول‌پاشی

علاوه بر افزودن کودها به خاک، عناصر غذایی معدنی به صورت محلول‌پاشی روی برگ‌ها نیز استفاده می‌شوند که به این روش، اصطلاحاً کود پاشی برگی[۱] می‌گویند. برگ‌ها نیز می‌توانند عناصر غذایی را جذب کنند. این روش اغلب نسبت به مصرف عناصر غذایی در خاک از مزایایی برخوردار است. تغذیه برگی، تأخیر زمانی بین جذب عناصر غذایی و مصرف به‌وسیله گیاه را کاهش می‌دهد و این مسئله در طی مرحله رشد سریع گیاه اهمیت دارد. همچنین در این روش مشکل جذب عناصر غذایی در خاک وجود ندارد (کافی و همکاران، ۱۳۸۳). از آنجایی که عناصری مانند آهن عمدتا به صورت کاتیون به خاک اضافه می‌گردند، احتمال تثبیت آنها توسط خاک زیاد است (خواجه‌پور، ۱۳۶۳) و همچنین با توجه به نوع خاک‌های ایران محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی همچون آهن از کاربرد آنها در خاک به‌دلیل برطرف نمودن سریع کمبود، مصرف آسان‌تر، کاهش سمیت ناشی از تجمع و جلوگیری از تثبیت این عناصر در خاک ، مناسب‌تر است (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۸۴).

از مزایای این نوع کوددهی، استفاده همزمان با حشره کش‌ها، قارچ کش‌ها و ... می‌باشد و هزینه کارگری و ماشین‌آلات و جذب سریع در گیاه، کاهش تثبیت و آبشویی از خاک و نیاز به مواد کمتری می‌باشد (عبد هادی، ۱۹۸۶). نتایج آزمایش‌های مختلف نشان داد، محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی در زراعت آفتابگران تأثیر قابل توجهی بر بهبود خصوصیات رویشی و همچنین عملکرد آفتابگردان دارد (رحیمی‌زاده و همکاران، ۲۰۱۰). در بسیاری از کشورها کشاورزان با مشکل کمبود عناصر غذایی و به‌ویژه کلروز آهن مواجه هستند. در خاک‌های آهکی که مشکل تثبیت و عدم جذب عناصر غذایی از جمله آهن وجود دارد. مناسب‌ترین روش تغذیه گیاهان به روش برگی است، با توجه به خصوصیات خاک‌های مناطق گرم کشور که دارای کربنات کلسیم زیاد می‌باشند، مصرف خاکی آهن منجر به رسوب ترکیبات کربناته آهن در خاک می‌شود. بنابراین استفاده از این عناصر به‌صورت محلول‌پاشی می‌تواند برای رفع کمبود این عناصر در خاک مفید باشد (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۸۴). مصرف برگی

[۱] Foliar application

عناصر ریز مغذی به دفعات متعدد، ضمن دفع کمبود آنها سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه می‌شوند (ویتی و چامبلیس، ۲۰۰۵).

## ۲-۹ - نانو تکنولوژی

### ۲-۹-۱ - کاربرد نانو در کشاورزی

از جمله فناوری‌های نوینی که در طول یک دهه‌ی اخیر دامنه و وسعت کاربرد آن رو به گسترش است، فناوری نانو می‌باشد. فناوری نانو عبارتست از هنر دستکاری مواد در مقیاس اتمی و مولکولی با هدف در دست گرفتن کنترل آنها در سطح مولکولی و اتمی و استفاده از خواص آنها در این سطوح. این فناوری در زمره فناوری‌های جدیدی است که امروزه در حال رشد و توسعه می‌باشد. یکی از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو درکشاورزی (در بخش آب و خاک)، استفاده از نانوکودها برای تغذیه گیاهان است (رضایی و همکاران، ۱۳۸۸). با استفاده از نانو ذرات، ذراتی که در سه بعد در مقیاس نانو یعنی کوچکتر از ۱۰۰nm باشند، می‌توان کودهای کنترل شده یا کودهایی با تأخیر در انتشار تولید کرد. نانو ذرات به‌علت سطح ویژه بیشتر، چگالی بیشتر، نواحی واکنشی زیاد بر سطح ذره از واکنش‌پذیری زیادی برخوردار هستند. این ویژگی‌ها، جذب کودها و آفت‌کش‌هایی که درمقیاس نانو تولید شده را آسان می‌سازد (ویس واناسان، ۲۰۰۹).

با توجه به رشد سریع جمعیت جهان، پیش‌بینی شده است که در سال ۲۰۵۰ جمعیت جهان به ۹/۶ میلیارد نفر برسد (سازمان ملل متحد ۲۰۱۳). فائو (۲۰۰۹) اعلام کرد تولید جهانی محصولات کشاورزی در سال ۲۰۵۰ باید ۷۰ درصد افزایش یابد تا نیازهای بشر به غذا تأمین شود. بنابراین، کشاورزی امروز نیاز به بهره‌وری بیشتر در تولید مواد غذایی دارد. با توجه به زمین‌های قابل کشت محدود و کمبود منابع آب در جهان، افزایش قابل توجه مصرف کودهای کشاورزی یکی از روش‌های تأمین غذای مورد نیاز مردم جهان می‌باشد. استفاده از کودها برای بهبود حاصلخیزی خاک و تولیدات گیاهی صرف نظر از نوع کشت یا شرایط محیطی اجتناب ناپذیر است. گزارش شده است که حدود ۵۰ درصد افزایش تولیدات گیاهی بر اثر کاربرد کودها در کشاورزی بوده است. در چهار دهه

گذشته، با وجود تلاش‌های بسیار، کارایی استفاده عناصر غذایی محصولات کشاورزی که نسبت کیلوگرم ماده خشک گیاه بر کیلوگرم عنصر غذایی مصرف شده است، ثابت باقیمانده است (سوبرامانیان و همکاران، ۲۰۱۵). کارایی کم عناصر غذایی، کوددهی نامتعادل و پاسخ کم گیاه به کود، نهایتاً منجر به رکود در تولید محصولات کشاورزی در کشورهایی شده است که با کمبود مواد آلی خاک رو به رو هستند (بیسواس و شارما، ۲۰۰۸). برای حفظ سطح فعلی تولید محصولات کشاورزی، کاربرد کودهای متنوع مرسوم در سطح زیاد و برای مدت طولانی در بخش کشاورزی باعث ایجاد مسائل جدی زیست محیطی در سطح جهانی شده است (لیو و لال، ۲۰۱۵). ازاینرو اهمیت نانو تکنولوژی به‌عنوان یک علم بین رشته‌ای و پیشتاز که می‌تواند باعث افزایش عملکرد محصولات کشاورزی در فرآیند کاشت، داشت و برداشت، بهینه‌سازی شرایط تولید و مدت نگهداری مواد غذایی و پروتئینی گردد، به خوبی آشکار می‌شود. در واقع علوم کشاورزی نزدیک به ۷۰ درصد از ۱۰ اولویت اول فناوری نانو در جهان را به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم به خود اختصاص داده است (عطایی، ۱۳۹۰).

یکی از راهکارهای جدید برای افزایش امنیت غذایی استفاده از فناوری نانو می‌باشد (موسوی و رضایی، ۲۰۱۱). فناوری نانو، کاربردهای بالقوه نو ظهور و تازه‌ای در زمینه علوم کشاورزی ایجاد کرده است. با استفاده از این دانش می‌توان شیوه‌های فعلی مدیریت محصول را بهبود بخشید. بنیاد نانو تکنولوژی در آمریکا، واژه نانو تکنولوژی را چنین توصیف می‌کند: تحقیق و توسعه هدفمند، برای درک و دستکاری و اندازه‌گیری‌های مورد نیاز در سطح مواد با ابعاد در حد اتم (رینولدز، ۲۰۰۲). نانو تکنولوژی به‌عنوان یک علم بین رشته‌ای می‌تواند کاربرد وسیعی در بخش کشاورزی داشته و در موارد مهمی از جمله افزایش تولیدات زراعی، کم کردن مصرف سموم و کودها، طولانی‌تر کردن مدت نگهداری محصول کشاورزی تولید شده و شاید بتوان گفت در تمامی مراحل و نهاده‌ها و ابزار کشاورزی انقلابی در جهت بهبود ایجاد نماید (خیام نکویی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین به‌دلیل اثرات مضری که کودهای شیمیایی در محیط زیست و کیفیت غذا ایجاد می‌کنند، مدت‌ها است که استفاده

از آن‌ها مورد نکوهش قرار گرفته است. در نانو کودها به‌عنوان جایگزین کودهای مرسوم، عناصر غذایی کود به تدریج و به‌صورت کنترل شده آزاد می‌شوند و در نتیجه از بروز پدیده مردابی شدن آب‌های ساکن و همچنین آلودگی آب آشامیدنی جلوگیری به‌عمل خواهد آمد. در حقیقت با بهره‌گیری از فناوری نانو در طراحی و ساخت نانو کودها، فرصت‌های جدیدی به منظور افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی و به حداقل رساندن هزینه‌های حفاظت از محیط زیست، پیش روی انسان گشوده شده است (نادری و شهرکی، ۱۳۹۰).

از جمله مزایای استفاده از نانو کودها در مقایسه با کودهای مرسوم می‌توان به افزایش راندمان و کیفیت منابع غذایی به واسطه سرعت جذب بالاتر، عدم اتلاف کودها به وسیله آبشویی و جذب کامل کود به وسیله گیاه به‌دلیل رهاسازی عناصر غذایی کود با سرعت مطلوب در تمام طول فصل رشد، کاهش قابل توجه آلودگی خاک، ذخایر آبی و محصولات غذایی به‌واسطه کاهش آبشویی کودها، کاهش میزان فشردگی خاک و سرعت از دست رفتن کیفیت آن، کاهش مسمومیت گیاهی و تنش ناشی از وجود غلظت‌های بسیار بالای موضعی نمک در خاک، افزایش عملکرد به‌واسطه وضعیت تغذیه‌ای مطلوب گیاه، بهبود خواص انبار داری و سهولت جابجایی کود اشاره کرد (نادری و شهرکی، ۱۳۹۰).

### ۲-۹-۲ - ورود نانو کودها به داخل گیاه

نانو کودها حامل‌های عناصر غذایی در ابعاد ۳۰ تا ۴۰ نانومتر ($۱۰^{-۹}$ متر) هستند و توانایی حمل مناسب یون‌های عناصر غذایی را به‌علت سطح ویژه زیاد دارند (سوبرامانیان و همکاران، ۲۰۱۵، دروسا و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از نانو فناوری در تولید کودها ممکن است موجب رهایش بهینه و افزایش کارایی جذب عناصر غذایی موجود در کود شود که منجر به فواید اقتصادی و زیست محیطی قابل توجهی می‌گردد (لیو و لال، ۲۰۱۵). ساختارهای در اندازه نانومتر در بسیاری از جنبه‌های زیست شناسی گیاهی مهم هستند.

قطر منافذ دیواره سلول‌های گیاه در محدوده ۵ تا ۲۰ نانومتر است (فلریچر و همکاران، ۱۹۹۹).

ریشه‌های گیاه که مسیر ورود عناصر غذایی به گیاه هستند، در اندازه نانومتر بسیار متخلخل می‌باشند. منافذ موجود بر روی ریشه‌ها با چند ده نانومتر قطر، برای فرآیندهای انتقال یونی و مولکولی، مهم تشخیص داده شده است (کارپیتا و همکاران، ۱۹۷۹). ممکن است نانو کودها از طریق این منافذ و یا توسط ترکیب با مولکول‌های انتقال دهنده یا ترشحات ریشه و یا با استفاده از اندوسیتوز و یا کانال یون، جذب شوند (ریکو و همکاران، ۲۰۱۱).

سطح برگ نیز شامل منافذ و روزنه‌های کوتیکولی نانو مقیاس و میکرو می‌باشد. یک مطالعه در رابطه با نفوذ ذرات پلی استیرن فلوئورسنت با سطوح اصلاح شده با کربوکسیلات با دو اندازه مختلف (۴۳ نانومتر و قطر ۱/۱ میکرومتر) به‌صورت سوسپانسیون آب به برگ باقلا نشان داد که نانو ذرات (و نه ذرات بزرگتر) می‌تواند از طریق منافذ روزنه، به داخل برگ نفوذ کنند (ایچرت و گلدباک، ۲۰۰۸). در مطالعه دیگری زامبریسکی (۲۰۰۴) قطر منافذ در برگ گیاهان را بررسی و مشاهده کرد که منافذ روزنه‌ها و همین‌طور منافذ سطح برگ در ابعاد نانو هستند، اگرچه قطر آنها دارای محدوده وسیعی بود. برای مثال شعاع منافذ موثر روزنه‌های سطح برگ گیاه قهوه در محدوده ۲ تا ۲/۴ نانومتر بود. متوسط شعاع منافذ روزنه‌های سطح برگ گیلاس، باقلا از ۲۷/۷ تا ۱۰۰ نانومتر بود (ایچرت و گلدباک، ۲۰۰۸). یکی دیگر از این منافذ پلاسمودسماتاها هستند که موجب تسهیل نقل و انتقالات بین سلولی می‌شوند (زامبریسکی، ۲۰۰۴). پلاسمودسماتاها کانال‌هایی نانو مقیاس هستند که قطر متوسط آنها ۵۰ تا ۶۰ نانومتر است که در دیواره سلولی گیاهان وجود دارد و موجب انتقال و ارتباط بین دو سلول می‌شوند. نانو کودها به‌علت اندازه کوچک شاید بتوانند عناصر غذایی را به‌طور موثرتری به گیاهان عرضه کنند چون ممکن است دسترسی آنها به سطوح گیاهی و کانال‌های حمل و نقل بیشتر باشد (ماسترونواردی و همکاران، ۲۰۱۵).

نانو کودها همچنین می‌توانند حلالیت بیشتری نسبت به دیگر کودها داشته باشند که این ویژگی در نانو ذرات بی شکل در انحلال ترکیبات کم محلول مشاهده شده است. این نانو ذرات بی شکل

سینتیک انحلال سریعتری نسبت به ذرات در ابعاد معمولی نشان می‌دهند و زیست فراهمی[1] را بر اثر افزایش نقطه اشباع (غلظتی از ماده در فاز محلول که با فاز جامد آن در تعادل است) افزایش می‌دهند (چاهال و همکاران، ۲۰۱۲). در نتیجه، انتظار می‌رود تولید نهاده‌های کودی با اندازه نانو اثر مفیدی بر کارایی کودها داشته باشد (ماسترونواردی و همکاران، ۲۰۱۵).

### ۲-۹-۳ - نقش محلول‌پاشی نانو ذرات آهن در گیاهان

استفاده از نانو ذرات اکسید آهن در افزایش غلظت آهن در گیاهان کارآمدتر از کودهای معمولی است. علت این امر، خصوصیات ذرات نانو، یعنی حلالیت بیشتر و سطح تماس بیشتر ذرات نانو با سطح گیاهان بیان شده است (رنجبر و شمس، ۲۰۰۹). غفاریان و همکاران (۲۰۱۳) در آزمایشی گلخانه‌ای گزارش کردند که غلظت کم (۰/۲ تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر) نانوذرات آهن سوپر پارامغناطیسی در شرایط هیدوپونیک مقدار کلروفیل در برگ‌های زیر رأسی سورگوم را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد که نشان می‌دهد که این نوع نانوذرات آهن می‌تواند به عنوان کود آهن برای سورگوم استفاده شده و نشانه‌های زردی ناشی از کمبود آهن را کاهش دهد. تأثیر کاربرد نانوذرات آهن بر گیاهان مشابه تأثیر آهن از منبع EDTA-Fe با غلظت ۳۰ تا ۴۵ میلی‌گرم بر لیتر بود.

دلفانی و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که محلول‌پاشی نانو ذارت آهن با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در ۲ لیتر آب برای لوبیا چشم سیاه، تعداد غلاف (۴۷ درصد)، وزن هزار دانه (۷ درصد)، مقدار آهن برگ‌ها (۳۴ درصد) و مقدار کلروفیل (۱۰ درصد) را به‌طور قابل توجهی نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین، کاربرد نانو ذرات آهن موجب عملکرد بیشتر محصول نسبت به کاربرد آهن معمولی با غلظت‌های مشابه (۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر لیتر) شد. هارسینی و همکاران (۲۰۱۴) اثرات محلول‌پاشی کلات نانو ذرات آهن بر گندم را در شرایط مزرعه و در یک خاک با pH برابر ۷/۶ در کرمانشاه مطالعه کردند. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی نانو ذرات کلات آهن اثرات قابل توجه و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر ارتفاع بوته، تعداد سنبل، وزن ۱۰۰۰ دانه، تعداد دانه در سنبله، شاخص

[1] Bioavailability

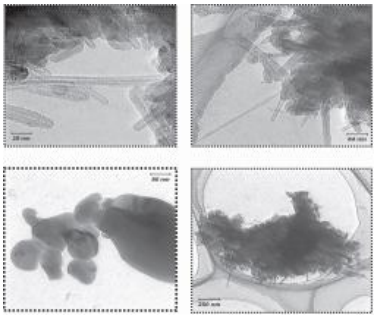
برداشت، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه داشت. جوادی‌مقدم و همکاران (۲۰۱۵) برای بررسی اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف نانوکود کلات آهن و روی بر رشد و عملکرد گیاه خیار، یک آزمایش گلخانه‌ای انجام دادند. بالاترین تعداد میوه و گل، کلروفیل و غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در غلظت‌های ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر روی به دست آمد. این مطالعه نشان داد که محلول‌پاشی نانوکود کلات آهن و روی می‌تواند رشد و عملکرد این گیاه را بهبود بخشد.

بیسترزجوسکا-پیوتروووسکا و همکاران (۲۰۱۲) ظرفیت تجمع نانوذرات اکسید آهن ($Fe_3O_4$) را در دو گیاه شاهی و نخود فرنگی مورد ارزیابی قرار دادند. نانو ذرات حاوی $^{59}Fe$ بود که به‌عنوان یک ردیاب برای تعیین مسیر نانو ذره در جاندار بکار رفت و توسط اسپکترومتری گاما اندازه‌گیری شد. این دو گونه گیاهی ظرفیت تجمع نانو ذرات اکسید آهن ($Fe_3O_4$) را با بیش از ۹۰ درصد در ریشه‌ها به‌علت جذب سطحی قوی نشان دادند (تقریباً ۳۹/۵ گرم نانوذرات اکسید آهن بر کیلوگرم وزن خشک ریشه در گیاه نخودفرنگی و ۷/۸ گرم بر کیلوگرم در گیاه شاهی). این نتایج جالب هستند چون هنگامی که به تجمع فلزات سنگین در گیاهان توجه شود، گونه‌های گیاهی بسیار زیادی فلزات را در سیستم ریشه تجمع داده و نگه می‌دارند و تنها درصد کمی را به قسمت‌های بالایی گیاه انتقال می دهند (پریرا و همکاران، ۲۰۰۲). بقایی و ملکی فراهانی (۱۳۹۲) برای بررسی اثر کود آهن با بنیان‌های متفاوت نانو و میکرو بر عملکرد کمی و تخصیص مواد فتوسنتزی زعفران زراعی آزمایشی در مزرعه انجام دادند. فاکتورهای آزمایش شامل دو نوع کود نانوکلات آهن و کلات معمولی بود. نتایج نشان داد که کود آهن با بنیان نانو نسبت به کلات معمولی مؤثرتر بود؛ به نحوی که در بیشتر صفات، تیمار ۵ کیلوگرم نانوکلات معادل ۱۰ کیلوگرم کود کلات معمولی بود که علت آن را کارایی بیشتر نانوکلات آهن دانستند. از طرفی فقیر بودن مزرعه از نظر محتوی آهن (۰/۹۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) از یک طرف و کارایی نانوکلات در رهایش تدریجی از طرف دیگر به احتمال زیاد منجر به افزایش عملکرد گردید. بهبود عملکرد توسط نانوکلات نسبت به کلات معمولی می‌تواند ناشی از کارایی کلات با ساختار نانو در رسانش و فراهمی بهینه عنصر آهن در فرآیندهای فیزیولوژیکی باشد. احتمالاً با فعال

شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی تشکیل کلروفیل افزایش یافته که در پی آن بهبود فرآیند فتوسنتز اتفاق می‌افتد و نهایتاً منجر به افزایش تعداد برگ زعفران‌های تیمار شده با نانوکلات می‌شود به‌طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بالاترین عملکرد کلاله خشک و پداژه تولیدی با کاربرد ۱۰ کیلوگرم نانوکلات آهن به‌دست آمد. این کود نانوکلات ضمن حصول عملکرد بالا احتمالاً به‌علت افزایش شدت فتوسنتز ناشی از جذب بیشتر آهن منجر به تولید پداژه با وزن بالا شده است.

برقی و همکاران (۱۳۹۳) برای بررسی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و معمولی آزمایشی مزرعه‌ای اجرا کردند. نتایج آنها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسید آهن بر میزان سدیم، آهن برگ، فسفر غده و عملکرد در هکتار، اثر مراحل محلول‌پاشی نانواکسید آهن بر میزان پتاسیم و عملکرد غده در هکتار و اثر متقابل این عوامل بر غلظت آهن غده سیب زمینی معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثر غلظت نانو اکسید آهن نشان داد که بیشترین مقادیر سدیم و فسفر غده در تیمار شاهد بدون مصرف کود آهن، بیشترین آهن برگ در تیمار مصرف کود آهن معمولی و بیشترین عملکرد غده در هکتار در غلظت دو درصد نانو اکسید آهن حاصل شد. مقایسه میانگین اثر متقابل عوامل فوق نیز نشان داد که ترکیب تیماری غلظت دو درصد نانواکسید آهن با محلول‌پاشی در زمان پر شدن غده بیشترین غلظت آهن غده را به خود اختصاص داد. آنها همچنین بیان کردند با توجه به اینکه خاک محل آزمایش دارای pH بالایی بود، کمبود عناصر ضروری نظیر آهن در گیاهان مشاهده می‌شود. مظاهری‌نیا و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیقی با هدف بررسی تأثیر و مقایسه اکسید آهن دو و سه ظرفیتی با کانی غالب هماتیت در دو نوع نانو و معمولی همراه با کود کمپوست زباله شهری گرانوله گوگردی بر مقدار منگنز و روی و مس گیاه گندم، آزمایشی گلخانه اجرا کردند. نتایج آنها نشان داد با افزایش مقادیر اکسید آهن، مقدار منگنز گیاه روند کاهشی داشت، این کاهش در نانو اکسید آهن نسبت به اکسید آهن معمولی بیشتر بود. این احتمالاً به دلیل حلالیت بیشتر نانو اکسید آهن نسبت به اکسید آهن معمولی بود که باعث ایجاد رقابت بین جذب آهن و منگنز توسط گیاه شد. در حالی که مقدار روی و مس گیاه روند افزایشی نشان داد که احتمالاً به دلیل اسیدی بودن پودر اکسید آهن و

ایجاد شرایط اسیدی در خاک توسط پودرهای اسیدی و افزایش جذب آنها در خاک می‌باشد. در مطالعه دیگر اثر متقابل کود کمپوست و دو نوع اکسید آهن بر غلظت این عنصر نشان داد که غلظت آنها در تیمار حاوی نانو اکسید آهن و کود کمپوست نسبت به اکسید آهن معمولی و کود کمپوست کمتر بود. این امر احتمالاً به دلیل حلالیت بیشتر آهن درتیمار حاوی نانو اکسید آهن و اشغال سایت های عمومی ریشه و رقابت آنها با آهن برای جذب این عناصر باشد.



شکل ۲ -۲ بزرگنمایی ذرات نانواکسید آهن با میکروسکوپ TEM (با بزرگنمایی ۸۰ تا ۵۰۰۰۰۰ برابر) (مظاهری‌نیا و همکاران، ۱۳۹۱)

## ۲-۱۰ - کودهای زیستی

### ۲-۱۰-۱ - نقش کود زیستی در عملکرد و اجزای عملکرد گیاهان

استفاده از ریزجانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی به‌عنوان طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه حل برای زنده و فعال نگه‌داشتن سیستم‌های حیاتی خاک، مطرح می‌باشد. عرضه مواد آلی به خاک به‌دلیل پاسخ‌گویی به ضروری‌ترین نیاز خاک، بزرگ‌ترین مزیت این قبیل کودهاست. علاوه بر این تامین عناصر غذایی به‌صورتی کاملاً متناسب با تغذیه طبیعی گیاهان کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های حیات، بهبود کیفیت و حفظ سلامت محیط زیست و در مجموع، حفظ و حمایت از سرمایه‌های ملی (خاک، آب، منابع انرژی غیر قابل تجدید) از مهم‌ترین مزایای کودهای زیستی محسوب می‌شود (صالح راستین، ۱۳۸۰؛ شرما، ۲۰۰۲). از سویی دیگر، تولید و مصرف بی‌رویه نهاده‌های شیمیایی (کودهای شیمیایی، قارچ‌کش‌ها و آفت‌کش‌ها) در کشاورزی رایج در طی چند دهه اخیر مشکلات زیست محیطی بسیار زیادی را سبب شده است که در این میان می‌توان به معضلاتی

نظیر آلودگی منابع آب و خاک، کاهش کیفیت محصولات غذایی و بر هم خوردن تعادل زیستی در محیط خاک که صدمات جبران ناپذیری به اکوسیستم‌ها وارد می‌سازد، اشاره کرد (کاپور و همکاران، ۲۰۰۲). حرکت به‌سوی کشاورزی پایدار بر پایه استفاده هر چه بیشتر از نهاده‌های درون مزرعه‌ای از جمله کودهای زیستی راه حل اساسی این مشکلات است (شیرانی راد و همکاران، ۱۳۷۹؛ صالح‌راستین، ۱۳۸۰). به‌طور معمول، جانداران مورد استفاده برای تولید کودهای زیستی، از خاک منشأ می‌گیرند و در اغلب خاک‌ها حضور فعال دارند. با این حال، در بسیاری از موارد، به‌دلیل عواملی نظیر تنش‌های محیطی بلند مدت نظیر یخبندان، خشکی، غرقابی و دمای شدید و همچنین مصرف فراوان و مکرر نهاده‌های شیمیایی و عدم حضور گیاه میزبان مناسب برای ریزجاندارهای همزیست به‌مدت طولانی، کمیت و کیفیت آنها در حد مطلوب نیست و به همین دلیل استفاده از مایه تلقیح آنها، ضرورت پیدا می‌کند (صالح راستین، ۱۳۸۰؛ شرما، ۲۰۰۲).

از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده موثره می‌باشد، بنابراین به‌نظر می‌رسد که تغذیه سالم گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیک دارای بیش‌ترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی باشد و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آنها شود. همچنین گزارش محققان حاکی از آن است که در گیاهان دارویی، مسیرهای خاص سنتز متابولیت‌های ثانویه به‌وسیله تأثیر میکروارگانیسم‌ها القا می‌شود (سانچز و همکاران، ۲۰۰۵). از انواع کودهای زیستی می‌توان به قارچ‌های میکوریزا به عنوان جزء کلیدی در بوم نظام که اثرات مثبتی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان همزیست دارند و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (**PGPR**) اشاره کرد.

### ۲-۱۰-۲ - قارچ‌های میکوریزا

واژه میکوریزا (قارچ ریشه) بیانگر ساختارهایی است که در نتیجه همراهی و همزیستی بین قارچ و ریشه گیاهان ایجاد می‌شود (صالح راستین، ۱۳۸۰). همزیستی میکوریزایی از رایج‌ترین و سابقه‌دارترین روابط همزیستی در سلسله گیاهان است که در بیشتر اکوسیستم‌ها وجود دارد

به‌طوری‌که بیشتر گیاهان (در حدود ۹۵ درصد گونه‌های گیاهان آوندی) لااقل یکی از تیپ‌های میکوریزا را دارا هستند (اردکانی و همکاران، ۱۳۷۹؛ صالح راستین، ۱۳۸۰).

قارچ‌های میکوریزایی به دو دسته کلی اکتومیکوریزا و اندومیکوریزا تقسیم‌بندی می‌شوند. قارچ‌های اکتومیکوریزا به درون سلول‌های ریشه وارد نمی‌شوند و به همین دلیل حالت میکوریزایی آنها، بیرونی خوانده می‌شود و شکلی از همزیستی است که در آن یک شبکه پیچیده هیف بین اپیدرم ریشه و سلول‌های پوست تشکیل شده و به داخل خاک گسترش پیدا می‌کند (اسمیت و همکارن، ۱۹۹۷). بیش از پنج هزار گونه قارچ در تشکیل میکوریزای بیرونی با حدود دو هزار گونه از گیاهان (بیشتر از انواع درختان جنگلی سوزنی برگ و پهن برگ) دخالت دارند (غلامی، ۱۳۷۸).

گروهی از قارچ‌های میکوریزایی که با گیاهان زراعی همزیستی دارند با نام اندومیکوریزا شناخته می‌شوند. این نوع نام‌گذاری برای میکوریزای درونی، به‌دلیل نفوذ قارچ به‌داخل سلول‌های پوست ریشه می‌باشد. در این گروه میلیسیوم قارچ در بین و داخل سلول‌های گیاه میزبان رشد می‌کند. بخش قابل توجهی از این قارچ‌ها تحت عنوان میکوریزای وزیکولار آرباسکولار دسته‌بندی می‌شوند و با تعداد بسیاری از گیاهان زراعی و باغی رابطه همزیستی دارند. مبنای نام‌گذاری اولیه قارچ‌های میکوریزا به علت تولید اندام‌های قارچی خاص به شکل بوته کوچک (آرباسکول) و نیز محفظه یا کیسه انباشته از مواد ذخیره (وزیکول) درون ریشه گیاهان میزبان است. آرباسکول‌ها معمولاً در سلول‌های بخش درونی پوست ریشه تشکیل می‌شوند. بدین‌نحو که هیف قارچ پس از نفوذ به‌داخل سلول، با ایجاد مداوم انشعابات دو شاخه‌ای که به‌تدریج نازک‌تر و ظریف‌تر می‌شوند، در مجموع ساختاری مشابه یک درختچه به‌وجود می‌آورد که به‌دلیل سطح تماس بسیار گسترده با سلول میزبان، قادر به تبادل مواد غذایی بین قارچ و گیاه میزبان است (صالح راستین، ۱۳۸۰؛ غلامی، ۱۳۷۸؛ شرما، ۲۰۰۲). وزیکول‌ها غالباً در نتیجه تورم سلول‌های میانی یا انتهایی هیف قارچی، در بین یا در داخل سلول‌های پوست ریشه تشکیل می‌شوند. به‌نظر می‌رسد که دارای مرفولوژی مشابهی در بین تمام میزبان‌ها باشند، به‌طوری‌که وزیکول‌ها معمولا گرد، بیضی شکل و گاهی دارای اشکال غیرمنظم هستند. وزیکول‌ها در

واقع اندام ذخیره‌ای قارچ می‌باشند که در آنها مقادیر زیادی از قطرات چربی ذخیره می‌شود. در صورت نیاز قارچ، این ذخایر در مراحل بعدی رشد، می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. همچنین وزیکول‌ها توانایی رویش و آلوده‌سازی جدید گیاه را نیز دارا هستند (رجالی، ۱۳۸۴).

قارچ‌های میکوریزا از نظر مورفولوژی اسپورها و اطلاعات ژنتیکی به هفت جنس *Acaulospora*، *Gigaspora*، *Glomus*، *Paraglomus*، *Sclerosysti*، *Scutellospora* و *Archaeospora* تقسیم‌بندی می‌شوند که در بین آنها جنس *Glomus* دارای بیشترین تعداد گونه در تمام خاک‌های جهان می‌باشد (درزی و همکاران، ۱۳۸۷؛ اردکانی و همکاران، ۱۳۷۹؛ غلامی، ۱۳۷۸).

قارچ‌های میکوریزا به شرایط مختلف محیطی و اقلیمی سازگار بوده و در بیشتر مناطق بجز شرایط غرقابی یافت می‌شوند. جمعیت این قارچ‌ها در طول فصل رشد در سیستم‌های زراعی متغیر است. از میان عوامل مؤثر در جمعیت آنها می‌توان به اسیدیته و رطوبت خاک و پوشش گیاهی محل اشاره کرد. قارچ‌های میکوریزا نسبت به دمای خاک واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند. شرایط خشک و افزایش طول روز به فعالیت بیشتر آنها منتهی می‌شود. قارچ‌های میکوریزا از نظر میزان آلودگی و درجه تأثیر برگیاه میزبان دارای تفاوت‌های چشم‌گیری هستند به‌طوری‌که تأثیر هر دو عامل بر گیاه میزبان تابعی از روابط بین گیاه میزبان، قارچ و فاکتورهای خاک نظیر دما، اسیدیته و ریزجاندارهای آن می‌باشد. از این رو قبل از گزینش گونه مناسب قارچ میکوریزا جهت مصرف در کشاورزی، درک این مطلب ضروری است که بدانیم در شرایط متفاوت محیطی، چگونه این قارچ‌ها بر گیاهان زراعی تأثیر گذاشته و چه عواملی جمعیت آنها را در اکوسیستم‌های زراعی کنترل می‌کنند (غلامی، ۱۳۷۸؛ شرما، ۲۰۰۲).

قارچ‌های میکوریزا در تامین عناصر غذایی گیاه میزبان، سلامتی و مقاومت آنها به بیماری‌ها در یک سیستم کشاورزی پایدار، نقش به‌سزایی دارند (شرما، ۲۰۰۲). یکی از مهم‌ترین آثار قارچ‌های میکوریزا، بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان زراعی به‌ویژه در شرایط حاصل‌خیزی ضعیف خاک‌هاست، به‌ویژه در آن اراضی که فسفر محلول در خاک آنها کم بوده یا در اثر خشکی حلالیت عنصر فسفر بسیار

کاهش یافته باشد. این افزایش عملکرد ممکن است به‌دلیل افزایش سطح جذب ریشه‌ها از طریق نفوذ میسیلیوم قارچ در خاک و برای دسترسی گیاه زراعی به حجم بیشتری از خاک باشد. در چنین شرایطی جذب عناصر غذایی پر مصرف به‌ویژه فسفر و برخی عناصر ریزمغذی نظیر مس، روی و منگنز و نیز مقاومت به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (غلامی، ۱۳۷۸؛ صالح راستین، ۱۳۸۰؛ شیرانی‌راد و همکاران، ۱۳۷۹؛ شرما، ۲۰۰۲). در تحقیقات انجام شده در سیستم‌های کشاورزی پایدار، اهمیت و تأثیر همزیستی میکوریزایی بر افزایش جذب آب، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش مقاومت گیاه نسبت به‌عوامل بیماری‌زا، دانه‌بندی خاک، کاهش آسیب‌های ریشه‌ای در هنگام جابجایی نشاها و تشدید فعالیت‌های مفید زیستی در خاک از طریق تأثیر مثبت بر روی برخی ریزجاندارهای خاکزی، مورد تاکید و تایید قرار گرفته است (رجالی و همکاران، ۱۳۸۰؛ صالح راستین، ۱۳۸۰؛ شرما، ۲۰۰۲).

تحقیقات متعددی در رابطه با نقش همزیستی میکوریزایی بر افزایش رشد و عملکرد گونه های زراعی، باغی، زینتی و سبزیجات صورت گرفته است (کاپور و همکاران، ۲۰۰۴). در پژوهشی که به ارزیابی اثر قارچ‌های میکوریزایی بر مقدار و کیفیت ماده مؤثره گیاه دارویی گشنیز پرداخته شده بود، مشخص شده که تلقیح این این گیاه با دو گونه قارچ میکوریزا *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasiculatum*، سبب افزایش قابل ملاحظه کمیت اسانس گشنیز در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده شد، به‌طوری که میزان اسانس در گیاهان تلقیح شده با گونه‌های مذکور به‌ترتیب در حدود ۲۸ و ۴۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد، بیشتر بود (کاپور و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین نتایج این تحقیق مبین آن بود که تلقیح میکوریزایی سبب بهبود کیفیت اسانس شد به‌نحوی که مقادیر اجزاء مهمی چون ژرانیول و لینالول در ترکیب اسانس به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت. از آنجایی که در این پژوهش، غلظت فسفر در گیاه نیز افزایش یافته بود لذا محققین بهبود کیفیت اسانس را با بهبود جذب فسفر مرتبط دانستند.

تلقیح میکوریزایی همچنین موجب بهبود قابل ملاحظه عملکرد زیستی و عملکرد اسانس در گیاه دارویی علف‌لیمو (*Cymbopogon martinii*) در مقایسه با تیمار شاهد شد (گوپتا و همکاران، ۲۰۰۲).

در پژوهشی که در گیاه دارویی نعناع (*Mentha arvensis*) صورت گرفت، تلقیح میکوریزایی سبب افزایش میزان اسانس و عملکرد آن در مقایسه با تیمار شاهد شد. محققان این پژوهش در مطالعات خود، شاهد بهبود تغذیه معدنی در گیاه بودند و همین پدیده را موثر در افزایش میزان اسانس در گیاهان تلقیح شده بیان کردند. عملکرد اسانس نیز به‌دلیل افزایشی که در اجزاء تشکیل دهنده آن یعنی میزان اسانس و عملکرد پیکره رویشی رخ داده بود، بهبود یافت (خالیک و جاناراهانان، ۱۹۹۷).

در مطالعه دیگری که بر روی نعناع انجام گرفت، گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه نعناع با گونه‌ای قارچ میکوریزا *Glomus fasiculatum* به‌طور قابل ملاحظه‌ای ارتفاع گیاه، عملکرد ماده خشک، عملکرد محصول (پیکره رویشی) را در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، افزایش داد. آنها مشاهده کردند که همزیستی قارچ میکوریزایی با ریشه گیاه نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، موجب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود ویژگی‌های رشد، نظیر ارتفاع گیاه و عملکرد ماده خشک شده است. همچنین آنها ملاحظه نمودند که تلقیح گیاهان نعناع با قارچ میکوریزا موجب افزایش معنی‌دار میزان اسانس و جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم به‌وسیله بافت‌های رویشی شد، اما بیشترین افزایش مربوط به جذب فسفر بود. بهبود جذب عناصر غذایی مذکور به مشارکت هیف‌های بیرونی قارچ میکوریزا در حجم وسیعی از خاک، جهت جستجوی مواد غذایی نسبت داده شد. آنها افزایش میزان اسانس در گیاه دارویی نعناع را نیز به بهبود جذب عناصر غذایی مذکور نسبت دادند. همچنین در پژوهشی در گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavandula spica*) که در پوشش‌های طبیعی صورت گرفت، نتایج حاکی از آن بود که آلودگی میکوریزایی ریشه گیاه موجب بهبود میزان جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم شد (ازکون و همکاران، ۱۹۹۸). در پژوهش دیگری که در دو گیاه دارویی به نام‌های شوید (*Anethum graveolens*) و نوعی زنیان (*Trachyspermum ammi Sprague*) انجام گرفته بود، ملاحظه شد که کاربرد دو گونه قارچ میکوریزا به نام‌های *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasigulatum* به‌طور قابل توجهی زیست توده و غلظت فسفر را بهبود بخشید، آنها نتیجه گرفتند که عواملی نظیر مورفولوژی ریشه و میزان

جذب فسفر توسط گیاه که در نهایت موجب افزایش سرعت رشد و نمو می‌شوند، موثرتر از ویژگی میزان آلودگی ریشه، در بهبود زیست توده گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا هستند. به‌عبارت دیگر آنها بیان کردند که درجه تأثیر یک گونه قارچ میکوریزایی در مقایسه با میزان آلودگی ریشه توسط آن، از اهمیت بیشتری برخوردار است. در این مطالعه گیاهان تلقیح شده دارای میزان اسانس بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده بودند به‌نحوی که گیاه دارویی شوید تا حدود ۹۰ درصد و گیاه دارویی زنیان تا حدود ۷۲ درصد نسبت به شاهد برتری داشتند، در این پژوهش جذب بیشتر فسفر معدنی که عنصری ضروری در بیوسنتز اسانس می‌باشد، به‌عنوان عامل تأثیرگذار در افزایش مقدار اسانس شناخته شد (کاپور و همکاران، ۲۰۰۲). در یک بررسی نشان داده شد که مخلوط قارچ‌های *G. mosseae* و *G. fasiculatum* میزان رشد و زیست توده را در گیاهان میزبان پیاز، گشنیز و ریحان افزایش می‌دهند (باسو و اسریواستاوا، ۱۹۹۸).

در پژوهش آریاگادا و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی گیاه دارویی اکالیپتوس (*Eucalyptus gloulus*) انجام شد، مشاهده شد که کاربرد دو گونه قارچ میکوریزا به نام‌های *Glomus mosseae* و *G. deserticola* باعث افزایش قابل ملاحظه وزن خشک و غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در گیاه در مقایسه با شاهد شد. در این تحقیق پژوهشگران دریافتند که همزیستی میکوریزایی از طریق ایجاد سیستم ریشه‌ای نازک‌تر و نفوذ آن به منافذ باریک خاک سبب بهبود جذب آب و عناصر غذایی پرمصرف شده است. در مطالعه دیگری که در آن به بررسی اثر قارچ میکوریزا برروی چندین گیاه دارویی بومی کشور هند پرداخته شد، وجود همزیستی میکوریزایی که باعث بهبود رشد شد، مورد تایید قرار گرفت (موتوکومار و همکاران، ۲۰۰۶). تلقیح آکاسیا (*Acacia holosercea* L.) با *Glomus interadices* سبب افزایش ماده خشک اندام هوایی گیاه شد (دوپوننیس و همکاران، ۲۰۰۵). جوشی و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای که بر روی گیاه دارویی بشقابی (*Scutellaria integrifolia*) از تیره Lamiaceae انجام دادند اظهار داشتند که تلقیح ریشه این گیاه با میکوریزا باعث افزایش رشد گیاه خصوصاً رشد ریشه شده است. شاکلی و همکاران(۲۰۰۴) در تحقیقی بر روی نوعی شبدر بومی آمریکا

(*Desmodium paniculatum*)، نشان دادند که تلقیح این گیاه با گونه‌ای از قارچ میکوریزایی *Glomus intraradices*، سبب افزایش قابل ملاحظه صفاتی مانند ارتفاع بوته و غلظت فسفر و پتاسیم اندام هوایی گیاه در مقایسه با تیمار عدم تلقیح شد. ایلباس و ساهین (۲۰۰۵) نیز در پژوهش خود بر روی سویا مشاهده کردند که تلقیح میکوریزایی منجر به بهبود ارتفاع گیاه، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و غلظت فسفر و نیتروژن در دانه شد. نتایج تحقیقات لانگ و همکاران (۲۰۰۳)، در مطالعه‌ای دیگر که به همین منظور در ذرت صورت گرفت، نشان داد که گیاهان تلقیح شده با میکوریزا، برتری محسوسی از نظر ارتفاع گیاهچه و غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم نسبت به شاهد داشتند (ویو و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین در پژوهشی که توسط سوبرامانیان و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum*) انجام گرفت، مشخص شد همزیستی ریشه گوجه فرنگی با یک گونه از میکوریزا *Glomus intradiceas*، سبب افزایش معنی‌دار گل‌دهی، ارتفاع بوته و عملکرد گوجه فرنگی در مقایسه با تیمار شاهد شد.

علی‌آبادی فراهانی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که تلقیح گیاه دارویی گشنیز با گونه‌ای از قارچ میکوریزا *Glomus hoi*، موجب افزایش معنی‌دار عملکرد اندام هوایی، میزان اسانس دانه، وزن هزار دانه، طول بلندترین میانگره و طول ریشه گشنیز شد. در مطالعه‌ای دیگر که بر روی گیاه گندم انجام گرفت، مشاهده شد که کاربرد قارچ میکوریزایی سبب بهبود ویژگی‌هایی نظیر ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت نسبت به تیمار شاهد شد (اردکانی و همکاران، ۱۳۷۹). در پژوهشی گیاه *Strophostyles helvala* تلقیح شده با گونه *G. mosseae* به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام هوایی و میزان کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی داشت (تاسانگ و مایوم، ۱۹۹۹). پیشنهاد شده است که همزیستی با قارچ‌های میکوریزا می‌تواند میزان فتوسنتز را از طریق تغییرات مرفولوژیکی از قبیل افزایش در سطح برگ افزایش دهد (هاریس و پایول، ۱۹۸۷). طی آزمایشی مشخص شد که تلقیح گیاه شبدر با قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش سطح برگ‌ها و در نتیجه افزایش میزان کلروفیل آنها شده و نهایتاً سرعت فتوسنتز خالص را در کل دوره رشد گیاه

افزایش می‌دهد (وریس و همکاران، ۱۹۹۸). در گیاه لوبیا تلقیح شده با قارچ میکوریزا که توسط آب شور دریا آبیاری شده بود، غلظت کلروفیل در تمام تیمارهای آبیاری از گیاهان شاهد (بدون تلقیح میکوریزا) بیشتر بوده است (رئیسی و قلاراتا، ۲۰۰۶). همچنین در تلقیح گیاه ذرت با قارچ میکوریزا کلروفیل برگ گیاه نسبت به شاهد افزایش نشان داد (فنگ و همکاران، ۲۰۰۲). خرم‌دل و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که تلقیح بذر سیاهدانه با کودهای زیستی باعث افزایش معنی‌دار شاخص سطح برگ، حداکثر تجمع ماده خشک و سرعت رشد محصول در مقایسه با شاهد شد. تحقیقات تورجامان و همکاران (۲۰۰۶) و لیو و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که تلقیح قارچ اندومیکوریزایی علاوه بر رشد اندام هوایی سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد ریشه، نیز شده است. وست (۱۹۹۱) در آزمایش خود با کاربرد سه سطح فسفر و قارچ میکوریزا در گشنیز نشان داد که میکوریزا و سطح متوسط کود فسفر (۴۰ کیلوگرم در هکتار) سبب افزایش عملکرد ریشه شد.

### ۲-۱۰-۳ - باکتری‌های محرک رشد

باکتری‌های مفید ریزوسفر را اغلب باکتری‌های محرک رشد گیاه یا PGPR[1] می‌نامند. این باکتری‌ها در اغلب خاک‌ها حضور فعال دارند. اما در بسیاری از موارد به‌دلیل عواملی نظیر تنش‌های محیطی (یخبندان، خشکی، غرقابی و دمای شدید) مصرف فراوان و مکرر نهاده‌های شیمیایی و عدم حضور گیاه میزبان مناسب برای ارگانیسم‌های همزیست به مدت طولانی، کمیت و کیفیت آنها در حد مطلوب نیست. به همین دلیل استفاده از مایه تلقیح آنها ضرورت پیدا می‌کند (حمیدی و همکاران، ۱۳۸۶؛ اردکانی و همکاران، ۱۳۷۹).

باکتری‌های محرک رشد گیاه متعلق به گونه‌های زیادی از جمله *Azotobacter*، *Azosprillium*، *Beijerinckia*، *Arthrobacter*، *Bacillus*، *Clostridium*، *Enerobacter*، *Gluconacetobacter* و *Pseudomonas* می‌باشند (اقبال، ۲۰۰۲). این باکتری‌ها با همزیستی و همیاری در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن نقش دارند. تثبیت بیولوژیکی نیتروژن حدود $۱۸۰\times۱۰^{۶}$ متر یک تن در سال در مقیاس

[1] Plant growth-promoting rhizobacteria

جهانی تخمین زده شده است که در این مقدار ۸۰ ٪ توسط باکتری‌های همزیست و ۲۰ ٪ باقیمانده توسط باکتری‌های همیار و آزادزی صورت می‌گیرد. امروزه به تثبیت بیولوژیکی نیتروژن از طریق باکتری‌های همیار آزادزی از جمله ازتوباکتر وآزوسپریلیوم در بوم نظام‌های کشاورزی توجه ویژه‌ای معطوف شده است (تیلاک و همکاران، ۲۰۰۵).

باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم که تثبیت کننده زیستی نیتروژن به روش همیاری هستند با ترشح هورمون‌های محرک رشد گیاه (اکسین، جیبرلین و سیتوکنین) به‌طور مستقیم و غیر مستقیم سبب بهبود رشد و نمو و افزایش عملکرد محصولات زراعی می‌گردند (ویلیکنزو همکاران، ۱۹۹۵). همچنین این باکتری‌ها در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌های B، اسیدهای نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین و غیره دارند که در افزایش جذب ریشه نقش مفید و موثری دارند (کادر و همکاران، ۲۰۰۲).

باکتری‌های محرک رشد می‌توانند به‌طور مستقیم با تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه، تولید آنزیم ACC دآمیناز، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر مواد محرک رشد گیاه و یا غیرمستقیم تولید آنتی بیوتیک، تخلیه ریزوسفر از آهن، رقابت با گونه‌های مضر برای سرایت به ریشه، تولید آنزیم‌های لیزکننده دیواره سلولی قارچ‌های بیماریزای گیاهی، ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیر زنده موجب افزایش رشد گیاه شوند (فریتاس و جرمیدا، ۱۹۹۰). همچنین گزارش شده است که یکی از دلایل افزایش رشد گیاه در اثر تلقیح با باکتری PGPR ترشح اکسین توسط آن است (فرانکنبرجر و آرشاد، ۱۹۹۵). میزان اکسین در میان باکتری‌های محرک رشد گیاه، گروه سودوموناس‌های فلورسنس به‌دلیل توانایی در تولید دامنه وسیعی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، ترکیبات کلات‌کننده آهن، تولید اسیدهای آلی (اسید سوکسینیک و لاکتیک) و در نهایت کنترل زیستی عوامل بیماریزای گیاهی دارای اهمیت فراوان می‌باشند. تعداد زیادی از باکتری های PGPR با تولید آنزیم ACC دآمیناز، پیش ماده تولید اتیلن در گیاه یعنی ACC را به

آمونیوم و آلفاکتوبوتیرات هیدرولیز کرده و مانع تولید بیش از حد اتیلن در شرایط تنش در گیاه و کاهش رشد ریشه می‌شوند (نادیم و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج تحقیقات سایر محققین نیز نشان داده است که در اثر مایه‌زنی با باکتری‌های مولد ACC دآمیناز، رشد گیاه کلزا (چنگ و همکاران، ۲۰۰۷) و ذرت (نادیم و همکاران، ۲۰۰۶) افزایش می‌یابد. تأثیر این کودهای زیستی بر رشد دو گیاه دارویی آویشن باغی (ویتال و همکاران، ۲۰۰۲) و نعناع (کایمک و همکاران، ۲۰۰۸) نیز مثبت ارزیابی شده است. باکتری‌های محرک رشد به دلیل توان تثبیت نیتروژن، توان تولید عوامل محرک رشد گیاه و همچنین به‌علت وجود فناوری تولید انبوه زادمایه آنها به عنوان یک کود زیستی در سطح جهانی شناخته شده‌اند (فونتز رامیرز و کابالرو ملادو، ۲۰۰۵).

مطالعات نشان می‌دهد که محدوده کاربرد این باکتری‌ها فراتر از گیاهان لگوم بوده و می‌توانند اثرات مثبت و اقتصادی برای محصولات غیرلگوم از جمله برنج (حسین و همکاران، ۲۰۰۹)، ذرت (ماتیرو و داکورا، ۲۰۰۴)، گندم و کلزا (شخاوت و مارتنسون، ۲۰۰۷) داشته باشند. که این اثر مثبت در افزایش رشد گیاهان غیر لگوم به مکانیسم‌هایی غیر از تشکیل گره ریشه‌ای و تثبیت زیستی نیتروژن مربوط می‌شود (حسین و همکاران، ۲۰۰۹) و می‌تواند تأکیدی بر کارائی برخی از سویه‌ها به عنوان باکتری‌های ریشه‌ای محرک رشد و امکان استفاده از آنها در کشت گیاهان غیرلگوم باشد (محبوب و همکاران، ۲۰۰۹).

باکتری‌های محرک رشد می‌توانند از طریق مکانیسم‌هایی مانند کاهش غلظت اتیلن و تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها باعث پایداری بیشتری در میزان کلروفیل برگ در مراحل انتهایی رشد شوند و شاخص کلروفیل برگ را افزایش دهند که افزایش کلروفیل افزایش فتوسنتز و در نهایت تجمع بیشتر ماده خشک در گیاه را به دنبال خواهد داشت (اعتمادی و همکاران، ۱۳۹۱). در این زمینه نتایج ماریوس و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که تلقیح باکتریایی در گیاه افتابگردان، موجب افزایش غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید گردید. همچنین محققان در آزمایشی تأثیر کودهای بیولوژیک ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و حل کننده فسفات را بر رشد گیاه

مرزنجوش مثبت گزارش نمودند (فاتما و همکاران، ۲۰۰۶). در همین راستا محققان تایید نمودند که تلقیح باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو تحت تنش شوری، در میزان رشد و محتوی کلروفیل کل موثر بود (هان و لی، ۲۰۰۵).

باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با در دسترس قرار دادن عناصر غیر قابل دسترس در گیاه سبب بهبود رشد و نمو و افزایش عملکرد گیاه شوند (وسی، ۲۰۰۳). کارلیداق و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند استفاده از PGPR تحت تنش شوری غلظت نیتروژن را در اندام هوایی گیاه توت فرنگی افزایش می‌دهد، آنها بیان نمودند که PGPR از طریق محدود کردن جذب کلر منجر به افزایش جذب نیترات در گیاه می‌شوند. در تحقیق دیگری، کاکماکی و همکاران (۲۰۰۷) اثر PGPR را بر رشد گیاهچه‌های گندم و اسفناج بررسی کردند، این محققین افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز توسط جدایه‌های PGPR را عامل افزایش جذب نیتروژن در گیاه مطرح کردند. همچنین اردکانی و همکاران (۲۰۱۱) نیز علت اصلی افزایش غلظت نیتروژن در گیاه گندم را توسعه سیستم ریشه‌ای (افزایش انشعابات ریشه‌ای و طول ریشه) توسط جدایه‌های PGPR بیان نمودند. گزارش شده است که افزایش تعداد تارهای کشنده در اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد، سطح ریشه‌ای را ۸ - ۱۵ برابر افزایش می‌دهد و از این طریق با اشغال حجم کافی از منطقه اطراف ریشه، در عرضه عناصر برای گیاه نقش دارند (باست میا و همکاران، ۲۰۱۰). در آزمایش‌های رودرش و همکاران (۲۰۰۵) باکتری‌های حل کننده فسفات جذب نیتروژن در اندام‌های هوایی در گیاه زراعی نخود را افزایش داد. الماس و ساغیر (۲۰۰۵) نشان دادند در حضور باکتری سودوموناس میزان فسفر در گندم افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرد. رامش و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایش تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر غلظت عناصر در ریشه گندم و سویا، افزایش غلظت، N، P، K، Zn، Cu، Fe و Mn در ریشه، ساقه و دانه گندم و سویا را در مقایسه با شاهد گزارش کردند. باست و شمسالدین (۲۰۱۰) اظهار داشتند که میزان عناصری مثل فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و حتی آهن در گیاهان تلقیح شده با باکتری افزایش می‌یابد. میزان کلسیم در توت فرنگی در حضور سودوموناس افزایش معنی‌داری داشته است

(اسیتکن و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش جذب کلسیم به دلیل اکسین در گیاهچه‌های پنبه که با سودوموناس تلقیح شده بودند نیز گزارش شده است (یائو و همکاران، ۲۰۱۰). هامدیا و همکاران (۲۰۰۴) مشاهده کردند که در اثر مایه‌زنی گیاه ذرت با باکتری آزوسپریلیوم تحت تنش شوری، جذب سدیم کاهش و جذب پتاسیم و کلسیم اندام هوایی افزایش یافت. گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه با تنظیم جذب عناصر غذایی افزایش نسبت پتاسیم به سدیم و نگهداری تعادل بین این عناصر اثر مفیدی بر رشد گیاهان تحت تنش شوری دارند (نادیم و همکاران، ۲۰۰۶).

استفاده از کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis*. L) باعث افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه شد (واند بروک، ۱۹۹۹). در گیاه دارویی پروانش (*Caharanthus roseus* L.) تلقیح گیاهچه‌ها با باکتری سودوموناس (*Pseudomonas flurescence*) باعث افزایش میزان زیست توده تولیدی و میزان آلکالوئید گیاه در شرایط تنش آبی گردید (عبدل جلال و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین نتایج بررسی راتی و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که کاربرد باکتری‌های آزوسپریلیوم و تیوباسیلوس باعث افزایش میزان زیست توده تولیدی در گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon martini* Roxb.) گردید.

چن و همکاران (۱۹۹۴) مشاهده کردند که تلقیح بذر گیاهان زراعی مختلف با باکتری‌های محرک رشد و به‌دنبال آن، دو بار محلول‌پاشی با باکتری‌های مذکور باعث افزایش عملکرد می‌شود. اشرف الزمان و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند که شواهد بسیاری مبنی بر توانایی باکتری‌های ریزوسفری در تولید و ترشح مواد تنظیم کننده رشد از جمله اکسین و همچنین تأثیر آنها بر مورفولوژی، تغذیه و رشد گیاهان وجود دارد.

مایاک و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که مایه‌زنی با باکتری *Achromobacter piechaudii* از طریق کاهش غلظت اتیلن سبب افزایش رشد دانهال‌ها، جذب فسفر و پتاسیم در اندام هوایی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری شد. خسروی و همکاران (۱۳۸۷) در تحقیقی تأثیر باکتری‌های ریزوبیومی مولد ACC دآمیناز را بر رشد گیاه گندم تحت تنش شوری و خشکی مورد ارزیابی قرار

دادند. نتایج نشان داد که مایه‌زنی با این باکتری‌ها منجر به افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته، طول ریشه، جذب عناصر غذایی (آهن، منگنز و مس) نسبت به شاهد شد. رانا و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند باکتری‌های *Providencia* sp. و *Bacillus* sp. موجب افزایش مقدار آهن و منگنز و همچنین زیست توده گیاهی و وزن دانه در گندم می‌شوند. حمیـــدی و همکـــاران (۱۳۸۶) نیز اثر باکتری‌های محرک رشد بر وزن هزار دانه را در ذرت معنـی‌دار دانسته و بیان کردند که باکتری‌های محـرک رشـد بـا تولید هورمون‌های محرک رشد و تأمین عناصر غذایی، امکان تداوم دوره پر شدن دانه و در نهایت افزایش وزن هزار دانه را فراهم ساخته‌اند. واگار و همکاران (۲۰۰۴) در بررسـی اثر تلقیح باکتری‌های حاوی آنزیم ACC دآمیناز بر رشد و عملکرد گندم دریافتند که باکتری‌های دارای این آنزیم عملکـرد دانـه، کـاه، وزن ریشه، طول ریشه، تعداد پنجه در کاه و دانه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش دادنـد. آنهـا تمامی این اثرات را به‌دلیل کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری تولیدکننده ACCدآمیناز دانستند. ونلون (۲۰۰۷) طی آزمایشی با بررسی تأثیر باکتری سودوموناس (*Pseudomonas flurescence*) روی چمن تورف دریافت که کاربرد این باکتری نمو شاخه‌ها و تشکیل ریشه‌های جانبی را افزایش داده است. افزایش تشکیل ریشه جانبی را می‌توان به تولید هورمون اکسین توسط باکتری مرتبط دانست که به‌واسطه آن جذب مواد غذایی افزایش یافت. پاتن و گلیک (۲۰۰۲) نیز گزارش کردند تلقیح گونه‌های مختلف گیاهی با باکتری‌های PGPR باعث افزایش رشد ریشه و یا افزایش تشکیل ریشه‌های فرعی از طریق ترشح هورمون اکسین توسط این باکتری‌ها شده و به دنبال آن سطح مؤثر ریشه افزایش یافته و نهایتاً جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه زراعی افزایش می‌یابد. تحقیقات نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه را در تولید هورمون‌های رشد گیاهی و افزایش ریشه‌زایی قلمه نعناع ثابت کرده است (کایمک، ۲۰۰۸). بانچیو و همکاران (۲۰۰۸) افزایش در وزن ریشه گیاه مرزنجوش در نتیجه تیمارهای باکتریایی را به افزایش ریشه‌های جانبی، سطح جذب ریشه و پتانسیل جذب مواد غذایی نسبت دادند.

افتخاری و همکاران (۱۳۸۸) در طی آزمایشی که روی برنج انجام دادند گزارش کردند که تأثیر

باکتری بر وزن خشک ساقه برنج در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و بیشترین وزن خشک ساقه در تیمار حل کننده فسفات به‌دست آمد. در آزمایشی دیگر مشخص شد که آلوده سازی با آزوسپریلیوم وزن خشک ساقه را به‌طور متوسط ۱۲/۳ درصد، در مقایسه با شاهد افزایش داد. الیاس و باهو (۲۰۱۰) در اسلام آباد پاکستان سویه‌هایی از باکتری آزوسپریلیوم را از ریشه گندم تحت اقلیم خشک و نیمه خشک و همچنین مناطق مرطوب جداسازی کردند با تکثیر و تلقیح این سویه‌ها بر گیاهان گندم، تعداد پنجه‌های بارور، میزان پروتئین دانه، تعداد سنبله، میزان جذب عناصر و رشد ریشه به خصوص تحت اقلیم خشک و نیمه خشک افزایش یافت. تیمار توأم هر دو باکتری تأثیر بیشتری در افزایش وزن خشک اندام هوایی داشته است. تیمارهای دارای باکتری آزوسپریلیوم و ازتوباکتر به تنهایی افزایشی به میزان ۳/۸۵ درصد و تیمارهای توأم دو باکتری افزایشی به میزان ۹/۷۵ درصد در مقایسه با تیمارهای بدون باکتری در وزن خشک اندام هوایی نشان دادند. نتایج مشابهی نیز توسط رای و گاور (۱۹۹۸) در خصوص تأثیر دو باکتری آزوسپریلیوم و ازتوباکتر و تلفیق این دو باکتری در افزایش عملکرد گندم گزارش شده است. هرناندز و همکاران (۱۹۹۵) افزایش وزن تر بوته، تعداد برگ و ارتفاع ذرت با باکتری سودوموناس فلورسنس را گزارش کردند. تیلاک (۱۹۹۲) بیان کرد تلقیح سورگوم و ذرت با آزوسپریلیوم حدود ۱۵ درصد و اثرات تلقیح با ازتو باکتر حدود ۱۰ درصد و اثرات تلقیح دو باکتری ازتوباکتر و آزوسپریلیوم مقدار ماده خشک ذرت و سورگوم را حدود ۳۰-۱۵ درصد افزایش داد. زهیر و همکاران (۲۰۰۴) افزایش ۱۹/۸ درصدی عملکرد دانه ذرت در اثر تلقیح توأم بذر باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس را گزارش کردند. فولچری و فریونی (۱۹۹۴) افزایش ۵۹ درصدی عملکرد دانه ذرت با افزایش تعداد دانه‌های بلال تا دو برابر در اثر تلقیح بذر با باکتری آزوسپریلیوم را گزارش نمودند. ناندانا و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند تلقیح بذرهای ذرت با باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم سبب افزایش علوفه گردید. چابوت و همکاران (۱۹۹۳) نیز افزایش ۳۳ درصدی وزن تر بوته ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری را گزارش کردند. نیتو و فرانکنبرگر (۱۹۹۱) نیز ۵ برابر شدن وزن خشک بوته ذرت با کاربرد باکتری ازتوباکتر را مشاهده کردند.

گزارش محققان حاکی از آن است که استفاده از کودهای زیستی حاوی میکروارگانیسم‌هایی همانند ازتوباکتر و آزوسپریلوم در بهبود ویژگی‌های رشد و ترکیب‌های اسانس گیاه مریم گلی کارآیی بالایی داشت (یوسف و همکاران، ۲۰۰۴). گزارش لیتی (۲۰۰۶) حکایت از اثر مثبت ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس و برخی از ترکیب‌های عمده اسانس در گیاه رزماری می‌باشد. مشخص شده است که ترکیب عمده اسانس‌ها ترپنوئیدها هستند بر پایه زیر واحدهای ایزوپرونوئید ($C_5H_8$) که بیوسنتر آنها بستگی زیادی به استیل CoA، ATP و NADPH دارد که خود وابسته به غلظت فسفر معدنی در گیاه می‌باشد (لومیس و کورتا، ۱۹۹۰). مورد دیگری که بسیار مهم است این است که متابولیت‌های ثانویه از متابولیت‌های اولیه منشاء می‌گیرند، بنابراین تا زمانی که گیاه از رشد مناسب برخوردار نباشد نمی‌تواند عملکرد متابولیت‌های ثانویه بالایی داشته باشد. همچنین گزارش شده است که هورمون‌های گیاهی، رشد گیاه را تحریک و بیوسنتز ترپن‌ها را در تعداد زیادی از گونه‌های آروماتیک (معطر)، که منجر به تغییرات مفید در کمیت و کیفیت ترپن‌ها می‌شوند را نیز تحریک می کنند (شاکلا و فروغی، ۱۹۹۰). در پژوهشی خلیل (۲۰۰۶) نشان داد که استفاده ار کودهای زیستی از جمله ازتوباکتر، سبب افزایش معنی‌دار عملکرد کمی و مواد موثره در گیاه دارویی اسفرزه شد. استفاده از کود بیولوژیک نیتروکسین و باکتری‌های حل کننده فسفات روی گیاه دارویی بابونه *Matricaria chamomilla* L.) باعث افزایش عملکرد رویشی و بذر و عملکرد اسانس شد، ولی تأثیر آن بر درصد اسانس معنی‌دار نبود (فلاحی و همکاران، ۱۳۸۸). عملکرد اسانس مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر باکتری سودوموناس افزایش یافت (بانچیو و همکاران، ۲۰۰۸). لیتی و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس و برخی ترکیبات عمده آن را در گیاه رزماری مثبت گزارش کردند. القدبانه و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که در نتیجه مصرف باکتری‌های محرک رشد، رشد گیاه و عملکرد روغن رازیانه افزایش یافت.

علاوه براین کیفیت ترکیبات شیمیایی آن نیز تغییر کرد. تحقیقات آلتاف و همکاران (۲۰۰۰) نیز اثرات مثبت باکتری‌های محرک رشد را بر میزان روغن دانه گزارش کرده‌اند و آن را به جابه‌جایی

مناسب‌تر آنزیم‌های فتوسنتتاز، بهبود فعالیت استیل کوآنزیم آ و افزایش فراهمی کربن برای بیوسنتز روغن نسبت داده‌اند. آناندام و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که استفاده از کودهای بیولوژیک تیوباسیلوس به‌طور معنی‌داری باعث افزایش سه درصدی میزان روغن بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) شد. بنابراین باکتری‌های محرک رشد می‌توانند تأثیر بسزایی در افزایش کمی و کیفی محصولات زراعی، باغی و دارویی داشته باشند.

# فصل سوم

# مواد و روش‌ها

## ۳-۱ - محل اجرای آزمایش

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود واقع در منطقه بسطام با طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۶۶ متر از سطح دریا انجام شد. ویژگی‌های خاک مزرعه آزمایشی در جدول ۳-۱ ارائه شده است.

جدول ۳-۱- ویژگی خاک مزرعه آزمایشی

| بافت خاک | هدایت الکتریکی ($dS.m^{-1}$) | اسیدیته (pH) | شن (%) | رس (%) | لای (%) | مواد آلی (%) | پتاسیم ppm | فسفر ppm | نیتروژن (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| لومی رسی | ۱/۸ | ۷/۶۶ | ۲۴ | ۳۲ | ۴۴ | ۰/۳ | ۲۰۵ | ۱۹ | ۰/۱۱ |

## ۳-۲ - مواد گیاهی و اجرای آزمایش

در این آزمایش از بذر سیاهدانه استفاده شد. سیاهدانه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شدند. قبل از کاشت در شرایط آزمایشگاهی و در دو نوبت درصد جوانه‌زنی بذرها اندازه‌گیری شد.

آزمایش به دو صورت کشت در مزرعه و کشت در گلدان در یک سال زراعی اجرا شد.

## ۳-۳ - آزمایش مزرعه‌ای

### ۳-۳-۱ - نوع آزمایش

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. زمین آزمایشی به سه بلوک ۱۵ کرتی تقسیم شده به‌طوری که مساحت هر کرت ۹ متر مربع (۳×۳ متر) بود. فاصله بین بلوک‌ها ۲ متر و فاصله بین کرت‌ها در هر بلوک ۶۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

### ۳-۳-۲ - آماده سازی زمین آزمایشی

مزرعه مورد مطالعه در پاییز سال قبل شخم عمیق زده شد و انجام عملیات تهیه بستر تکمیلی در اواخر فروردین به وسیله دیسک و ماله انجام گرفت. سپس نقشه طرح پیاده و کرت بندی انجام شد. کرت‌ها با توجه به نقشه طرح و انتساب تصادفی تیمارها مشخص شدند و طول و عرض آنها تعیین گردید.

### ۳-۳-۳ - عملیات کاشت

عملیات کاشت در تاریخ ۹۶/۲/۱ انجام گرفت. عمق کاشت بذر دو سانتی‌متر از سطح زمین در نظر گرفته شد. عملیات کاشت به‌صورت جوی و پشته و به‌صورت دستی در محل داغ آب پشته‌ها انجام شد. میزان ۳ درصد بذر بیشتر از میزان اندازه‌گیری شده در زمین استفاده شد تا عدم سبز شدن برخی از بذور به دلیل شکستگی، ناخالصی و یا شرایط نامساعد محیطی جبران شود. فاصله روی ردیف ۵ سانتی‌متر و بین ردیف ۶۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

### ۳-۳-۴ - عملیات داشت

عملیات داشت شامل آبیاری و وجین علف‌های هرز بود. اولین مرحله آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام شد و آبیاری‌های بعد به فاصله هر ۷ الی ۱۰ روز بسته به شرایط اقیلمی و تا مرحله رسیدگی دانه‌ها انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت دستی تا مرحله‌ای از رشد گیاهچه‌های سیاهدانه که قابلیت رقابت با علف‌های هرز را داشتند انجام شد.

### ۳-۳-۵ - اعمال تیمارها

در این طرح، فاکتور اول تیمار محلول‌پاشی نانو اکسید آهن در سه سطح شاهد، ۱/۵ و ۳ گرم در یک لیتر آب بود. اندازه‌ی ذرات نانو ۲۰ نانومتر، درصد خلوص ۹۹/۲ درصد، دارای شکل کروی، چگالی ۰/۸۴ گرم بر متر مکعب و از شرکت نانو پیشگامان ایرانیان تهیه شد. محلول‌پاشی نانو اکسید آهن در دو مرحله انجام شد. مرحله اول زمانی که گیاهچه‌ها در مرحله ساقه‌دهی بودند در تاریخ ۹۶/۴/۳ و مرحله دوم دو هفته بعد از محلول‌پاشی اول زمانی که اولین گل‌ها روی بوته‌ها در مرحله باز شدن

بودند انجام شد. محلول‌پاشی‌ها جهت جلوگیری از آفتاب سوختگی در هنگام غروب آفتاب با توجه به نقشه طرح انجام گرفت.

فاکتور دوم انواع مختلف کودهای زیستی شامل قارچ‌های میکوریزایی *Glomus intraradices*و*Glomus mosseae* که از شرکت زیست فناور توران شاهرود تهیه شدند و دو نوع باکتری محرک رشد شامل *Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum* تهیه شده از شرکت دانش بنیان تمیشه گرگان به همراه تیمار شاهد بودند. جهت اعمال تیمارهای کود زیستی برای تلقیح بذور با مایه تلقیح باکتری، با توجه به اینکه این مایه‌ها به شکل مایع بودند در تاریکی به نحوی بذور با مایه مخلوط شدند که یک پوشش کاملا یکنواخت از این مایه‌های تلقیحی روی سطح بذر تشکیل شود. سپس کشت این بذور در هنگام غروب آفتاب انجام شد و بلافاصله روی شیارها خاکپاشی شد. جهت اعمال قارچ‌های میکوریزایی به مقدار ۲۰ گرم در هر متر مربع خاک و بر اساس نقشه طرح، بعد از آماده سازی زمین و قبل کشت بذور به‌صورت شیاری ریخته شد، روی قارچ‌ها با کمی خاک پوشانده شد و سپس عملیات بذرپاشی و خاکپاشی روی بذرهای کاشته شده صورت گرفت.

### ۳-۳-۶ - برداشت

گیاه سیاهدانه به دلیل اینکه گیاهی شکوفا می‌باشد و احتمال ریزش در آن زیاد است و رسیدگی در این گیاه یکنواخت نیست، برداشت محصول هنگامی که رنگ بوته‌ها متمایل به زرد شد ولی هنوز کپسول‌ها شکاف بر نداشته بودند به‌صورت دستی در تاریخ ۱۴ و ۱۵ مرداد ماه ۱۳۹۶انجام شد.

## ۳-۴ - آزمایش گلدانی

### ۳-۴-۱ - نوع آزمایش

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش همانند تیمارهای مزرعه بودند که جهت انجام این آزمایش ۱۲۰ گلدان با قطر

دهانه ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۷ سانتی‌متر تهیه شد. سپس گلدان‌ها با خاک جمع‌آوری شده از مزرعه تحقیقاتی پر شدند.

### ۳-۴-۲ - عملیات کاشت

عملیات کاشت در تاریخ ۹۶/۱/۲۰ به عمق دو سانتی‌متر در هر گلدان انجام شد. در هر گلدان ۱۰ تا ۱۵ بذر استفاده شد تا عدم سبز شدن برخی از بذور به دلیل شکستگی، ناخالصی و یا شرایط نامساعد محیطی جبران شود و در نهایت بعد از سبز شدن کامل بوته‌ها تنها پنج بوته در هر گلدان با توجه به فضای موجود در هر گلدان نگهداری شد.

### ۳-۴-۳ - عملیات داشت

عملیات داشت شامل آبیاری گلدان‌ها هر دو روز یک بار انجام گرفت.

### ۳-۴-۴ - اعمال تیمارها

جهت اعمال تیمارهای کود زیستی برای تلقیح بذور با مایه تلقیح باکتری، با توجه به اینکه این مایه‌ها به شکل مایع بودند در تاریکی به نحوی بذور با مایه مخلوط شدند که یک پوشش کاملا یکنواخت از این مایه‌های تلقیحی روی سطح بذر تشکیل شود.

جهت اعمال تیمار میکوریزا به ازای هر کیلوگرم خاک ۵۰ گرم از هر سویه درون گلدان‌ها اضافه شد.

محلول‌پاشی نانو اکسید آهن در دو مرحله ساقه‌دهی و دو هفته بعد از محلول‌پاشی اول در هنگام غروب آفتاب انجام شد. سپس دو هفته بعد از محلول‌پاشی دوم بوته‌های موجود در سطح گلدان‌ها برداشت و اندازه‌گیری‌های لازم در بخش هوایی و ریشه صورت گرفت.

## ۳-۵ - اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی (آزمایش مزرعه‌ای و گلدانی)

### ۳-۵-۱ - اندازه‌گیری رنگدانه های فتوسنتزی

### ۳-۵-۲ - نمونه برداری جهت اندازه‌گیری رنگدانه‌ها، فلاونوئید و آنتوسیانین

نمونه برداری جهت اندازه‌گیری این صفات دو هفته بعد از محلول‌پاشی دوم انجام شد. نمونه‌ها از برگ‌های تازه و بالایی گیاهان با حذف اثر حاشیه به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و بعد از اتیکت گذاری با استفاده از یخدان به آزمایشگاه دانشکده منتقل شدند. سعی بر آن بود که عصاره‌های گیاهی جهت اندازه‌گیری هر کدام از صفات بلافاصله بعد از انتقال نمونه‌های تازه برداشت شده به آزمایشگاه تهیه شوند.

### ۳-۵-۲-۱ - اندازه‌گیری کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید از روش آرنون (۱۹۴۹) استفاده شد. بدین ترتیب ۰/۰۵ گرم برگ تر از نمونه‌های برداشت شده با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی سائیده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ هزار دور قرار داده شد. سپس قسمت فوقانی حاصل از سانتریفیوژ را در کووت اسپکتروفتومتر (Unico, Chines) ریخته و به‌طور جداگانه در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد و در نهایت مقدار کلروفیل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم بافت تر از طریق روابط (۳-۱)، (۳-۲) و (۳-۳) محاسبه شدند.

$$Chl_a = 12.7\ (A_{663}) - 2.69\ (A_{645}) \times \frac{V}{1000 \times W} \qquad (۱-۳)$$

$$Chl_b = 22.9\ (A_{645}) - 4.68\ (A_{663}) \times \frac{V}{1000 \times W} \qquad (۲-۳)$$

$$C_{(\text{کاروتنوئید})} = 7.6\ (A_{480}) - 1.49\ (A_{510}) \times \frac{V}{1000 \times W} \qquad (۳-۳)$$

که در این روابط v حجم عصاره مصرف شده و w وزن نمونه می‌باشد.

### ۳-۵-۳ - فلاونوئید برگ

برای سنجش فلاونوئیدها ۰/۰۵ گرم بافت تر از نمونه‌های برداشت شده، در ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱)، خوب ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. پس از صاف کردن، محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Chines) در طول موج ۳۰۰ نانومتر خوانده شد، سپس با استفاده از رابطه (۳-۴) محاسبه و بر حسب درصد جذب بیان شد (کریزک و همکاران، ۱۹۹۸).

$$100 \frac{V}{700} \text{Fla=ABS (300 nm)} \qquad (۴-۳)$$

که در این رابطه V حجم عصاره مصرف شده و ABS جذب نوری می‌باشد.

### ۳-۵-۴ - آنتوسیانین برگ

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت گیاهی از نمونه‌های برداشت شده، با ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱ درصد متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۵ دقیقه و در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Chines) در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد و مقدار آنتوسیانین با استفاده از رابطه زیر محاسبه و و بر اساس میکروگرم بر گرم بافت تر بیان گردید (میتا و همکاران، ۱۹۹۷).

$$A= A_{530} – (0.25 \times A_{657}) \qquad (۵-۳)$$

که در این رابطه A جذب محلول می‌باشد.

### ۳-۵-۵ - اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

#### ۳-۵-۵-۱ - نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برگ

نمونه برداری جهت اندازه‌گیری این صفات دو هفته بعد از محلول‌پاشی دوم انجام شد. در آزمایش مزرعه‌ای نمونه‌ها از برگ‌های تازه و بالایی گیاهان با حذف اثر حاشیه از هر کرت به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و به همین ترتیب نمونه‌هایی از آزمایش گلدانی نیز انتخاب و بعد از اتیکت گذاری با استفاده از یخدان به آزمایشگاه دانشکده منتقل و در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

#### ۳-۵-۵-۲ - نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه

نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری این صفات در ریشه دو هفته بعد از محلول‌پاشی دوم انجام شد. بدین منظور گیاهان به‌طور تصادفی از هر تیمار انتخاب شدند و به‌طور کامل از گلدان خارج شدند و بعد از شستشو ریشه‌ها از اندام هوایی جدا شدند بعد از اتیکت گذاری به آزمایشگاه منتقل و در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و از بخش‌های انتهایی و نازکتر هر ریشه نمونه برداری جهت تهیه عصاره استفاده شد.

#### ۳-۵-۵-۳ فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

جهت استخراج این آنزیم از روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) استفاده شد. بدین منظور جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در برگ، ۰/۰۵ گرم بافت تر از نمونه‌های برداشت، با استفاده از بافر فسفات ۲۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۷ به خوبی ساییده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه و در ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و فاز رویی به‌عنوان عصاره گیاهی در مخلوط واکنش مورد استفاده قرار گرفت. ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز شامل بافر فسفات ۲۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۷، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۵ مولار و پراکسید هیدروژن ۱/۲ میلی مولار به همراه عصاره گیاهی بود. عمل اندازه‌گیری با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Chines) طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام گرفت. ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز (ε) برابر با $2/8\ m\ M^{-1}Cm^{-1}$ می‌باشد. برای محاسبه‌ی فعایت آنزیم از تغییرات جذب نور در ۱ دقیقه‌ی اول استفاده شد.

### ۳-۵-۵-۴ - فعالیت آنزیم کاتالاز

جهت استخراج آنزیم کاتالاز از روش کار و میشرا (۱۹۷۶) استفاده شد. بدین منظور ۰/۰۵ گرم بافت تر از نمونه‌های برداشت شده، با استفاده از بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ به خوبی ساییده شد. اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، پراکسید هیدروژن ۰/۴۵ مولار و عصاره آنزیمی انجام شد. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی آغاز گردید و تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Chines) در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌مدت ۱ دقیقه در فواصل زمانی ۱۰ ثانیه ثبت گردید. . تغییر جذب به دست آمده در زمان ۱ دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۴۰ است تقسیم شد و سپس میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول $H_2O_2$ در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

### ۳-۵-۵-۵ - فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز

جهت استخراج آنزیم پلی فنول اکسیداز بر اساس روش کار و میشرا (۱۹۷۶) همراه با تغییراتی انجام شد. بدین منظور ۰/۰۵ گرم بافت تر از نمونه‌های برداشت شده، با استفاده از بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ به خوبی ساییده شد. مخلوط واکنش به حجم ۳ میلی‌لیتر شامل ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، عصاره آنزیمی و پیروگایول ۰/۳ مولار بود. با اضافه کردن پیروگالل به مخلوط واکنش فعالیت آنزیمی آغاز شد. تغییرات جذب نور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, Chines) با طول موج ۴۲۰ نانومتر در ۱ دقیقه‌ی اول اندازه‌گیری شد. تغییرات جذب به دست آمده در زمان ۱ دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۲/۴۷ است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

## ۳-۶ - اندازه‌گیری برخی صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای)

### ۳-۶-۱ - اندازه‌گیری درصد روغن دانه

روغن موجود در بذر سیاهدانه با استفاده از روش سوکسله تعیین گردید. برای این منظور نمونه‌ها از قبل به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس پودر شدند. مقدار ۳ گرم از هر نمونه در کاغذ صافی پیچیده و داخل اکسترکتور دستگاه قرار داده شد. بالون‌ها به مدت ۲ تا ۳ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد داخل آون خشک شدند، سپس به دسیکاتور منتقل و پس از هم دما شدن با محیط توزین شدند و روی صفحه گرم کننده دستگاه قرار گرفتند، داخل بالون‌ها با مقدار مشخص پترولیوم اتر به عنوان حلال آلی پر شد. اکسترکتور روی دهانه بالون قرار گرفت و سپس مبرد بر روی اکسترکتور قرار داده شد دستگاه با کلید اصلی روشن و دما برای همه نمونه‌ها روی ۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید و فرآیند استخراج ۸ ساعت به طول انجامید. پس از این مدت، دستگاه خاموش و حلال جمع شده در داخل اکسترکتور از طریق شیر مخصوص خارج گردید. بالون‌ها به زیر هود منتقل شدند تا باقیمانده اتر از بین برود، آن‌ها به مدت ۱/۵ ساعت با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. بالون‌ها به دسیکاتور منتقل و بعد از سرد شدن توزین گردیدند. درصد روغن موجود در نمونه‌ها با استفاده از رابطه (۳-۶) به‌دست آمد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

(۳-۶) درصد روغن دانه = (وزن اولیه بالون - وزن ثانویه بالون) × ۱۰۰

### ۳-۶-۲ - اندازه‌گیری درصد و عملکرد اسانس دانه

عمل اسانس‌گیری از ۳۰ گرم دانه کاملا پودر شده با روش تقطیر با بخار آب به مدت سه ساعت و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. بدین منظور نمونه‌های انتخابی که به مدت ۸ ساعت خشک شده بودند کاملا پودر شده و همراه با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بالون ۱۰۰۰ میلی‌لیتر قرار داده شدند و سه ساعت حرارت داده شدند. در اثر حرارت، فشار بخار آب افزایش یافت و غده‌های حاوی

اسانس شکسته شده و اسانس همراه با بخار آب وارد مبرد می‌شود. در مبرد عمل میعان صورت گرفته و قطرات اسانس درون آب به صورت دو فاز مشخص به طرف لوله مدرج حرکت می‌کند که به دلیل سبک‌تر بودن اسانس نسبت به آب، اسانس روی آب تجمع پیدا می‌کند و آب اضافی از طریق لوله رابط به بالون باز می‌گردد. برای جمع‌آوری اسانس، شیر دستگاه را باز کرده تا آب خارج شده و سپس اسانس را داخل بطری‌های کوچک که از قبل با ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شده بودند جمع‌آوری شد. سپس بطری‌ها را دوباره وزن کرده و وزن اسانس در صد گرم دانه خشک محاسبه شد و پس از محاسبه درصد وزنی اسانس در دانه‌ها، عملکرد آن در واحد سطح (بر حسب گرم در متر مربع) تعیین شد (ال سید و همکاران، ۲۰۰۰).

### ۳-۶-۳ - اندازه‌گیری درصد تیموکینون اسانس

تعیین درصد تیموکینون اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی ( GC-Mass) مدل Hewlett Packard HP6890 مجهز به سیستم موئینه به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر انجام شد. گاز حامل هلیوم با سرعت حرکت ۱ میلی‌متر در دقیقه داخل ستون بود. برنامه دمایی ستون از ۲۶۰-۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه تنظیم شد پیک های خروجی بر اساس استاندارد و جرم مولکولی تشخیص و تعیین مقدار گردیدند (آدامز، ۱۹۹۵).

## ۳-۷ - اندازه‌گیری عناصر غذایی در دانه، اندام هوایی و ریشه

### ۳-۷-۱ - نمونه‌برداری از دانه (آزمایش مزرعه‌ای)

در پایان فصل رشد، هنگامی کـه رنگ بوته‌ها متمایل به زرد شده ولی هنوز کپسول‌هـا شـکاف بـر نداشته بودند، ابتدا از هر کرت به‌طور تصادفی تعداد ۵ بوته انتخاب شد. دانه‌ها از کپسول‌های بوته‌ها جدا شدند و جهت اندازه‌گیری عناصر بعد از اتیکت گذاری به آزمایشگاه منتقل شدند.

### ۳-۷-۲ - نمونه برداری از اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی)

دو هفته بعد از محلول‌پاشی دوم، بوته‌ها به‌طور کامل از گلدان‌ها خارج شدند و بعد از شستشو و

جدا کردن بخش هوایی از ریشه به‌طور جداگانه بعد از اتیکت گذاری در پاکت‌های کاغذی جهت اندازه‌گیری عناصر غذایی مورد نظر در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس آسیاب شدند.

### ۳-۷-۳ - اندازه‌گیری درصد نیتروژن

درصد نیتروژن اندام‌های گیاه با استفاده از دستگاه کجلدال (Fass, Spanish) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ۰/۳ گرم نمونه گیاه با دقت ۰/۰۰۱گرم توزین و به لوله‌های هضم (بالن ژوژه ۱۰۰میلی‌لیتر) منتقل شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اسید سولفوریک-اسید سالیسیلیک –آب اکسیژنه اضافه و ۲۴ ساعت به حال خود قرار داده شد. لوله‌ها بعد از این مدت، به‌مدت ۲ ساعت تا ۱۸۰درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و بعد از خنک شدن ۳ بار و هر بار ۱ میلی‌لیتر آب اکسیژنه به لوله‌ها اضافه شد، مجددا لوله‌ها روی هیتر تا ۳۳۰درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت گذاشته تا عصاره بی رنگ شد. عصاره در بالن به حجم ۱۰۰میلی‌لیتر رسانیده شد و از آن ۵ میلی‌لیتر گرفته و به بالن تقطیر منتقل شد. میزان ۲ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید سدیم اضافه شد و قیف دهانه بالن تقطیر را با آب شسته تا حجم محلول ۲۰ میلی‌لیتر گردد. بالن را به کمک بخار آب حرارت داده بعد از ظهور اولین قطره تقطیر به‌مدت ۶ دقیقه ادامه داده شد. محلول حاصل از تقطیر در۱۰ میلی‌لیتر اسید بوریک حاوی ۱۰قطره اندیکاتور جذب می‌شود. ۰/۵ دقیقه قبل از پایان عمل تقطیر ارلن محتوی اسید بوریک را اندکی پائین آورده تا انتهای مبرد با بخار آب شسته شود. اسید بوریک حاوی آمونیاک را با اسید سولفوریک ۰/۰۰۵ مول تا تغییر رنگ محلول از سبز به صورتی تیتر شد. عمل را با نمونه شاهد به‌دست آمده از عمل هضم نیز طبق روش انجام داده شد. سپس میزان ازت در نمونه خشک گیاهی بر حسب درصد از رابطه (۳-۷) محاسبه شد (واهینگ و همکاران، ۱۹۸۹).

$$N=0.56\times t\times (a-b)\times V/M\times 100/D.M \qquad (۳-۷)$$

t= غلظت اسید مصرفی جهت تیتراسیون بر حسب مول در لیتر

a= میزان اسید مصرفی جهت نمونه بر حسب میلی‌لیتر

b= میزان اسید مصرفی جهت شاهد بر حسب میلی‌لیتر

D.M: درصد ماده خشک گیاه

**۳-۷-۴ - اندازه‌گیری فسفر به روش کالریمتری(رنگ زرد مولیبدات وانادات)**

به‌منظور اندازه‌گیری میزان فسفر در اندام‌های گیاه، ۱ گرم از بافت خشک را در داخل بوته چینی ریخته و در داخل کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت قرار داده شد. مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره حاصل پس از هضم با استفاده از اسید سولفوریک-اسید سالیسیلیک – آب اکسیژنه را به داخل بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتر ریخته و ۵ میلی‌لیتر به آن محلول آمونیوم مولیبدات وانادات اضافه کرده و به حجم رسانده شد. سپس میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر ( ,Rayleight) uv.1601, China با طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (چاپمن و پرات، ۱۹۶۱). سپس میزان فسفر بر حسب درصد با استفاده از رابطه (۳-۸) محاسبه شد.

$$P = a \times b \times V/2000W \times 100/D.M \qquad (۳-۸)$$

a: غلظت فسفر نمونه

b: غلظت فسفر شاهد

V: حجم نهایی محلول

W: وزن نمونه خشک گیاه

D.M: درصد ماده خشک گیاه

**۳-۷-۵ - اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای**

به منظور اندازه‌گیری میزان پتاسیم به روش چاپمن و پرات (۱۹۶۱)، ۱ گرم از بافت خشک را در داخل بوته چینی ریخته و در داخل کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت قرار داده شد. محلول حاصل از عصاره‌گیری به روش هضم با اسید سولفوریک-اسید سالیسیلیک –آب اکسیژنه را به نسبت ۹+۱ با کلرور سزیم (Cs) رقیق کرده و سپس میزان جذب با دستگاه فلیم فوتومتر

(Jenway, England)و در طول موج ۷۶۶/۵ نانومترخوانده شد (واهینگ و همکاران، ۱۹۸۹). سپس میزان پتاسیم در نمونه خشک گیاهی بر حسب درصد با استفاده از رابطه (۳-۹) محاسبه شد.

$$K = a \times b \times V/1000W \times 100/D.M \qquad (۹-۳)$$

a: غلظت پتاسیم نمونه

b: غلظت پتاسیم شاهد

V: حجم نهایی محلول

W: وزن نمونه خشک گیاه

D.M: درصد ماده خشک گیاه

### ۳-۷-۶ - اندازه‌گیری آهن به روش جذب اتمی شعله‌ای A.A.S

جهت اندازه‌گیری میزان آهن اندام‌ها، مقدار ۱ گرم از بافت گیاهی پودر شده را در داخل بوته چینی ریخته و در داخل کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت قرار داده شد. پس از آن به هرکدام از نمونه‌ها ۱۰ میلی لیتر اسیدکلریک ۲ نرمال اضافه گردید و پس از قرار گرفتن در حمام بن‌ماری به مدت ۲۰ دقیقه و صاف شدن توسط کاغذ صافی، به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شدند. این عصاره تهیه شده به همراه نمونه‌های استاندارد، و شاهد را با شعله آبی استیلن- هوا ابری نموده و میزان جذب آهن در طول موج ۲۴۸/۳ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت عنصر در نمونه با استفاده از سیستم قرائت غلظت دستگاه جذب اتمی (Thermo electron, USA) به‌دست آمد (پرکین، ۱۹۸۲). در نهایت میزان عنصر آهن طبق رابطه (۳-۱۰) بر حسب ppm محاسبه شد.

$$Fe = 100/D.M \times V/W \times (a-b) \qquad (۱۰-۳)$$

a: غلظت عنصر در نمونه بر حسب ppm

b: غلظت عنصر در شاهد بر حسب ppm

V: حجم عصاره حاصل از هضم بر حسب میلی‌لیتر

W: وزن نمونه گیاه بر حسب گرم

D.M: درصد ماده خشک گیاه

## ۳-۸ - اندازه‌گیری برخی صفات کمی

### ۳-۸-۱ - ارتفاع گیاه (آزمایش مزرعه‌ای)

در مرحله رسیدگی دانه، ۶ بوته به‌طور تصادفی از هر کرت، انتخاب شد و ارتفاع بوته‌ها بر اساس بلندترین شاخه گل‌دهنده با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و سپس میانگین آنها برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۸-۲ - تعداد شاخه جانبی (آزمایش مزرعه‌ای)

در مرحله رسیدگی دانه، ۶ بوته به‌طور تصادفی از هر کرت، انتخاب شد و تعداد شاخه‌های جانبی آن‌ها شمارش گردید و سپس میانگین آنها برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۸-۳ - وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی (آزمایش گلدانی)

دو هفته پس از اعمال محلول‌پاشی دوم نانو اکسید آهن، پنج بوته از هر تیمار به‌طور کامل از گلدان‌ها خارج شدند، سپس ریشه و اندام هوایی هر بوته به‌صورت جداگانه در داخل پاکت‌های کاغذی قرار داده شده و در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. سپس وزن نمونه‌های خشک شده با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند و میانگین آنها برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۸-۴ - محاسبه نسبت وزن ریشه به بخش هوایی (آزمایش گلدانی)

نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی، پنج بوته انتخاب شده محاسبه و میانگین آنها جهت تجزیه آماری ثبت شد.

### ۳-۸-۵ - طول ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

دو هفته پس از اعمال محلول‌پاشی نانو اکسید آهن، پنج بوته از هر تیمار برداشت گردید، سپس بوته‌ها به‌طور کامل از گلدان خارج شدند و پس از شستشو طول اندام هوایی و ریشه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و سپس میانگین آنها برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۸-۶ - نسبت طول ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

نسبت طول ریشه به اندام هوایی، پنج بوته انتخاب شده محاسبه و میانگین آن‌ها جهت تجزیه آماری ثبت شد.

## ۳-۹ - عملکرد و اجزای عملکرد (آزمایش مزرعه‌ای)

### ۳-۹-۱ - تعداد کپسول در بوته

در مرحله رسیدگی دانه، ۶ بوته به‌طور تصادفی از هرکرت، انتخاب شد و تعداد کپسول‌های هر بوته شمارش گردید و سپس میانگین آنها برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۹-۲ - تعداد دانه در کپسول

در مرحله رسیدگی دانه، ۶ بوته به‌طور تصادفی از هر کرت، انتخاب شد و از هر بوته دانه‌های ۵ کپسول به‌طور انتخابی مورد شمارش قرار گرفت و سپس میانگین آنها برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۹-۳ - وزن هزار دانه

برای تعیین وزن هزار دانه سه نمونه ۵۰۰ تایی از دانه‌های مربوط به هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و توزین شد. سپس وزن هزار دانه محاسبه و برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳-۹-۴ - عملکرد دانه و عمکلرد بیولوژیکی

برای تعیین عملکرد نهایی، بعد از حذف اثر حاشیه‌ای، بوته‌های یک متر مربع وسط هر کرت برداشت، دانه‌ها از کپسول‌های برداشت شده جدا شدند و با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در نهایت عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار برآورد شد.

جهت تعیین عملکرد بیولوژیکی(زیستی)، وزن کل بوته برداشت شده بعد از خشک کردن در آون ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین شده و بر حسب کیلوگرم در هکتار برآورد شد و برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

## ۳-۱۰ - درصد کلونیزه شدن قارچ میکوریزا با ریشه‌ها (آزمایش گلدانی)

### ۳-۱۰-۱ - نمونه برداری و رنگ‌آمیزی ریشه

جهت مطالعه همزیستی قارچ با ریشه از گیاهان موجود در آزمایش گلدانی استفاده شد، بدین منظور دو هفته بعد از محلول‌پاشی دوم، ریشه‌های گیاه به‌طور کامل از گلدان‌ها خارج، خاک آنها شسته و سپس قطعات یک سانتی‌متری ریشه (به میزان حدود ۱ گرم) از هر گیاه جدا شدند. نمونه‌ها در محلول FAA (ترکیب فرمالدهید، استون و اتانول) فیکس شد. قطعات ریشه برای رنگ‌آمیزی ابتدا در محلول KOH ۱۰ درصد به مدت ۷ دقیقه رنگ‌بری شده و سپس به مدت ۳ دقیقه با محلول جوهر و سرکه ۵ درصد جوشان رنگ‌آمیزی شد (ویرهیلیگ و همکاران، ۱۹۹۸). نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده برای بررسی درصد همزیستی و عکس‌برداری استفاده شد.

### ۳-۱۰-۲ - اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه

برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ۱۵ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده روی لام قرار داده، با استفاده از میکروسکوپ نوری درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها به‌صورت کیفی اندازه‌گیری شد (نوریس و همکاران، ۱۹۹۲). به این صورت که درصد حضور اندام‌های قارچی از جمله آربوسکول، وزیکول و میسیلیوم‌ها در طول ریشه به عنوان معیار برای اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون در نظر گرفته شدند (کوهلر و همکاران، ۲۰۰۹). در نهایت میانگین ۱۵ قطعه به عنوان درصد کلونیزاسیون در نظر گرفته شد.

## ۳-۱۱ - تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD در سطح احتمال یک و پنج درصد پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. ضریب همبستگی بین صفات عملکرد و اجزای عملکرد نیز با نرم‌افزار مذکور انجام شد. برای رسم نمودارها و جداول ازبرنامه EXCEL استفاده گردید

# فصل چهارم

# نتایج و بحث

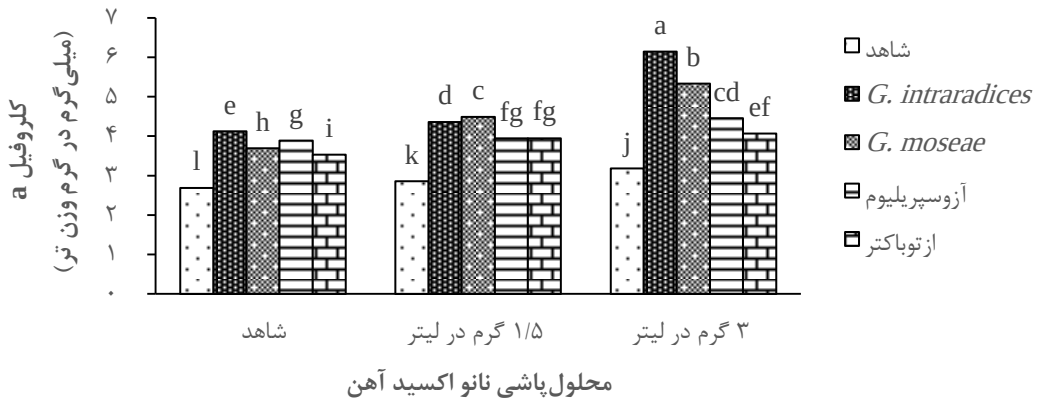
## ۴-۱ - صفات بیوشیمیایی (آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای)

### ۴-۱-۱ - میزان رنگدانه های فتوسنتزی

#### ۴-۱-۱-۱ - کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل

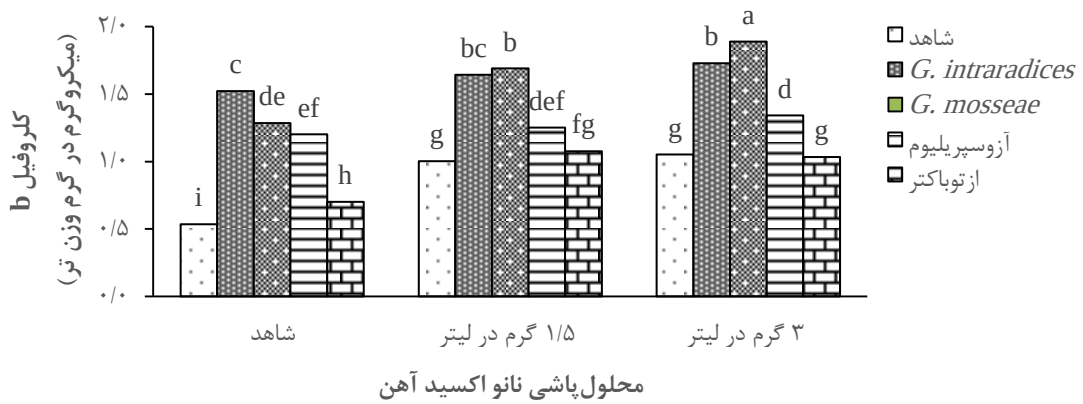
**آزمایش گلدانی**

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به محتوای کلروفیل اندازه‌گیری شده از آزمایش گلدانی نشان داد علاوه بر اثرات تیمارهای مورد بررسی، اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ‌های گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (پیوست ۱). همان‌گونه که در شکل ۴-۱ مشاهده می‌شود بیشترین میزان کلروفیل a در برگ‌ها، از مصرف توأم نانواکسید آهن با غلظت سه گرم در لیتر و قارچ‌های میکوریزایی *G. intraradices* (با میانگین ۶/۱۴ میلی‌گرم در گرم بافت تر) حاصل شد. مصرف توأم سه گرم نانو اکسید آهن به‌همراه قارچ *G. mosseae* (با میانگین ۵/۳۳ میلی‌گرم در گرم بافت تر) در رتبه بعدی قرار داشتند. در بین تیمار کودهای زیستی، قارچ‌های میکوریزا بهتر از باکتری‌ها بر میزان کلروفیل a در برگ‌ها تأثیر داشتند. همچنین کمترین میزان کلروفیل a در برگ‌ها در این بررسی از تیمار شاهد و عدم مصرف کود زیستی (با میانگین ۲/۶۹ میلی‌گرم در گرم بافت تر) حاصل شد.



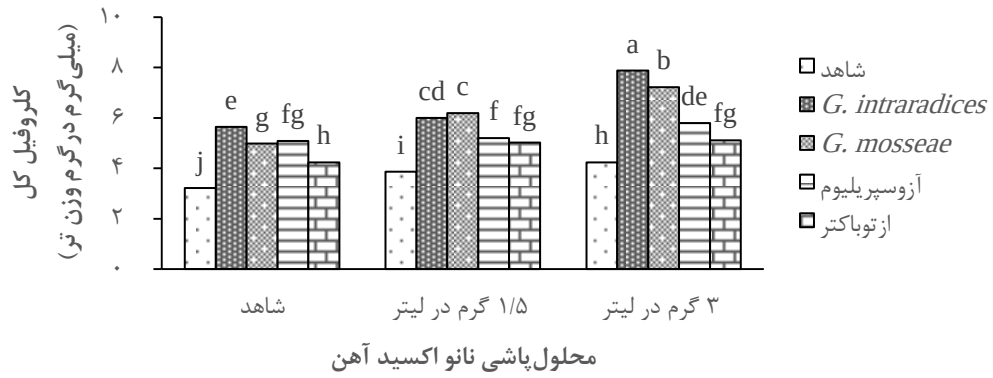

شکل ۴-۱- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a (آزمایش گلدانی)

بیشترین میزان کلروفیل b از مصرف توأم سه گرم نانو اکسید آهن و قارچ *G. mosseae* (با میانگین ۱/۸۸ میلی‌گرم در گرم بافت تر) و بعد از آن مصرف توأم سه گرم نانو اکسید آهن و قارچ *G. intraradices* (با میانگین ۱/۷۲ میلی‌گرم در گرم بافت تر) حاصل شد، که تفاوت معنی‌داری را با مصرف توأم ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن و دوگونه قارچ میکوریزا نداشت. در این بین کمترین مقدار کلروفیل b از تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کود زیستی) با میانگین ۰/۵۳ میلی‌گرم در گرم بافت تر به‌دست آمد (شکل ۴-۲). در مورد کلروفیل b نیز گونه‌های قارچ *Glomus* بهتر از گونه‌های باکتری تأثیرگذار بودند.




شکل ۴-۲- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل b (آزمایش گلدانی)

همان‌طور که در شکل ۴-۳ مشاهده می‌شود بیشترین میزان کلروفیل کل از مصرف توأم محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن و قارچ *G. intraradices* با میانگین ۷/۸۶ میلی‌گرم در گرم بافت تر حاصل شد. سپس ترکیب این غلظت از محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و قارچ *G. mosseae* با میانگین ۷/۲۱ میلی‌گرم در گرم بافت تر و بعد از این ترکیب تیماری محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه دو گونه قارچ میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۶/۱۸ و ۶ میلی‌گرم در گرم بافت تر در افزایش میزان کلروفیل کل در گیاه موثر واقع شدند.

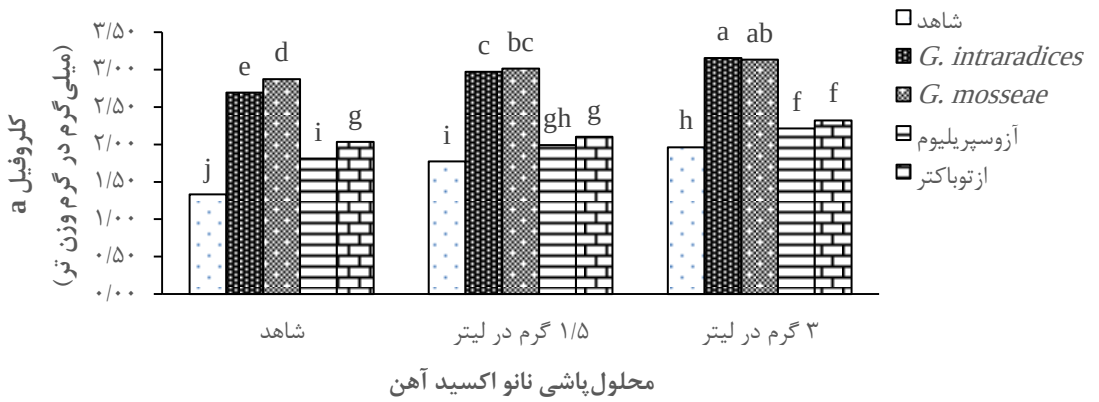



شکل ۴-۳- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل کل(آزمایش گلدانی)

## آزمایش مزرعه‌ای

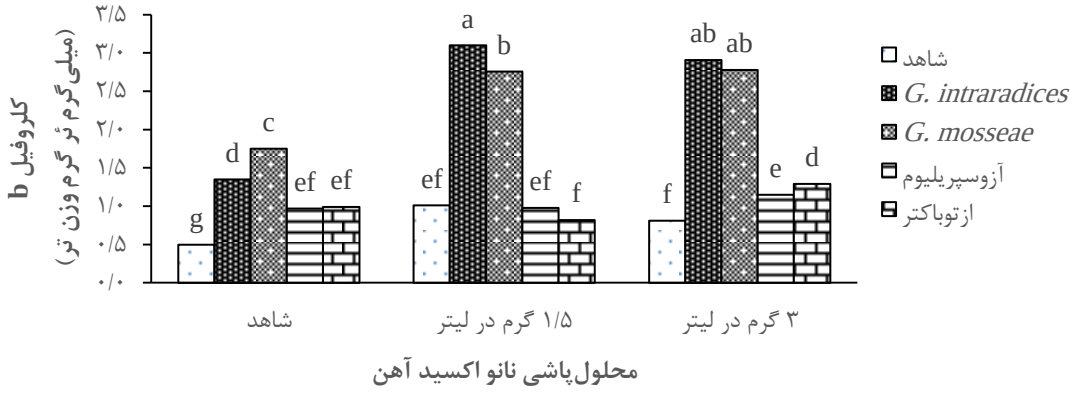
تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که علاوه بر اثرات جداگانه هر کدام از تیمارها اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل گیاه سیاهدانه معنی‌دار شد (پیوست ۲).

بیشترین میزان کلروفیل a از مصرف توأم سه گرم نانو اکسید آهن در یک لیتر و دو گونه قارچ میکوریزی *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۳/۱۵ و ۳/۱۳ میلی‌گرم در گرم بافت تر حاصل شد و بعد از آن محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه دو گونه قارچ میکوریزی *G. mosseae* و *G. intraradices* به‌ترتیب با میانگین‌های ۳/۰۱ و ۲/۹۷ میلی‌گرم در گرم بافت تر را می‌توان به عنوان ترکیب تیماری موثر در افزایش کلروفیل a در این آزمایش نام برد. کمترین میزان کلروفیل a نیز در تیمار شاهد (عدم مصرف کود زیستی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن) با میانگین ۱/۳۳میلی‌گرم در گرم بافت تر مشاهده شد. نتایج آزمایش نشان داد با افزایش غلظت نانو اکسید آهن میزان کلروفیل a در گیاه افزایش یافت. همچنین قارچ‌های میکوریزا نیز در هر دو سطح محلول‌پاشی نانو اکسید آهن نسبت به باکتری‌های محرک رشد در افزایش کلروفیل a نقش موثرتری داشتند (شکل ۴-۴).




شکل ۴-۴- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسیدآهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیلa (آزمایش مزرعه‌ای)

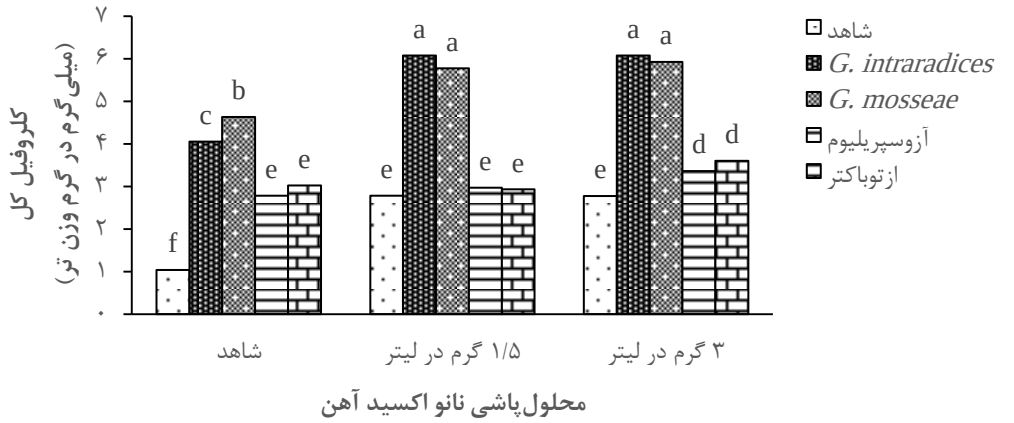
بیشترین میزان کلروفیل b از محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن و قارچ *G. intraradices* با میانگین ۳/۱ میلی‌گرم در گرم بافت تر حاصل شد که با مصرف توأم سه گرم در لیتر نانو اکسید آهن و دو گونه قارچ میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۲/۹۱ و ۲/۷۸ میلی‌گرم در گرم بافت تر تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار نیز در شرایط عدم مصرف کود زیستی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن با میانگین ۰/۵ میلی‌گرم در گرم بافت تر مشاهده شد (شکل ۴-۵). باکتری‌های محرک رشد هر چند میزان کلروفیل را در برگ افزایش دادند اما در مقابل تأثیر قارچ‌های میکوریزا بسیار ناچیز بود.




شکل ۴-۵- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل b (آزمایش مزرعه‌ای)

همان‌طور که در شکل ۴-۶ مشاهده می‌شود بیشترین میزان کلروفیل کل نیز با مصرف توأم

محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و قارچ‌های میکوریزا حاصل شد و تفاوت معنی‌داری بین دو سطح محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و دو گونه قارچ میکوریزایی مشاهده نشد. نتایج این آزمایش نیز تأثیر بیشتر قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد را در افزایش میزان کلروفیل در گیاه سیاهدانه را نشان داد. بنابراین اینگونه به‌نظر می‌رسد که مصرف غلظت کمتر نانو اکسید آهن جهت صرفه جویی در میزان کود بدون اینکه تفاوت معنی‌داری در میزان کلروفیل حاصل کند و ترکیب این کود با قارچ‌های میکوریزا می‌تواند تأثیر مثبتی در افزایش میزان کلروفیل سیاهدانه داشته باشد.




شکل ۴-۶- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل کل (آزمایش مزرعه‌ای)

محتوای کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین عواملی است که ظرفیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. غلظت کلروفیل به‌عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است، زیرا غلظت کلروفیل برگ یکی از عوامل کلیدی در فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد (قوش و همکاران، ۲۰۰۴). ثابت شده که کمبود آهن در گیاه سبب تخریب ساختار کلروپلاست شده که کاهش میزان کلروفیل را به دنبال دارد و سبب زرد شدن برگ‌های گیاه می‌شود (پینتو و همکاران، ۲۰۰۵). گزارش ملکوتی (۱۳۷۹) حاکی از آن است که کمبود آهن به سازو کار تولید کلروفیل آسیب می‌رساند، زیرا معلوم شده است که مقدار کلروفیل گیاهان به در دسترس بودن مداوم آهن بستگی دارد و می‌تواند به عنوان یک عامل کمکی برای فعال کردن آنزیم نیترات ریداکتاز به کار رود. احتمالاً علت افزایش مقدار رنگدانه های فتوسنتزی با افزایش میزان نانو اکسید آهن به دلیل تأثیر آهن بر ساخت پیش‌سازهای

سنتز آنهاست، زیرا آهن جز متابولیک آنزیم کاپروپورفینوژن اکسیداز است و این آنزیم در بیوسنتز آلفا -آمینولینووولنیک که پیش‌ساز بیوسنتز رنگدانه های فتوسنتزی است تأثیر دارد (مارچنر، ۱۹۹۵). محمدی و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و سولفات روی بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی گیاه نعناع فلفلی گزارش کردند که محلول‌پاشی با کود آهن توانست میزان کلروفیل برگ نعناع را افزایش دهد. در تیمار شاهد، تعداد رنگدانه‌های فتوسنتزکننده و مقدار کلروفیل برگ‌ها کمترین مقدار را دارا بود. بناواس و همکاران (۱۹۹۵) با بررسی تأثیر عناصر کم‌مصرف بر روی سویا ملاحظه کردند که دو عنصر آهن و روی با افزایش میزان کلروفیل برگ موجب افزایش تعداد و وزن دانه در سویا و در نتیجه، افزایش عملکرد آن شد. پیوندی و همکاران (۱۳۹۰) با بررسی غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ کیلوگرم در هکتار نانو کلات آهن در میزان رنگدانه های فتوسنتزی گیاه ریحان گزارش کردند که افزایش غلظت نانو کلات آهن به‌طور معنی‌داری سبب افزایش غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل در گیاه می‌شود. در آزمایش حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نیز افزایش غلظت نانو اکسید آهن سبب افزایش رنگدانه های فتوسنتزی در گیاه کنجد شد. در آزمایشی مشابه با بررسی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر محتوی کلروفیل تحت شرایط تنش شوری در گیاه جو مصرف توأم این دو تیمار علاوه بر تعدیل تنش شوری توانست میزان رنگدانه های فتوسنتزی را در گیاه افزایش دهد (داداش-زاده و همکاران، ۱۳۹۶). در آزمایش هاشمی فدکی و همکاران (۱۳۹۷) نیز محلول‌پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل نسبت به شاهد در گیاه چای ترش شد. داداش‌زاده و همکاران (۱۳۹۶) در آزمایشی گزارش کردند بیشترین غلظت مصرفی نانو اکسید آهن (۰/۹ گرم در لیتر) به‌همراه قارچ میکوریزا و باکتری آزوسپریلیوم محتوای کلروفیل را در گیاه جو به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

از آنجایی که فتوسنتز یکی از مهم‌ترین شاخص‌های فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه است که وابسته به محتوای کلروفیل در گیاه می‌باشد و از این رو ممکن است همزیستی میکوریزی به‌عنوان یک محرک متابولیسمی عمل کند که سبب جابجایی قاعده‌گرای محصولات فتوسنتزی به سمت ریشه‌ها

شده و بدین ترتیب محرکی برای انجام فعالیت فتوسنتزی بیشتری باشد. دیده شده است که در گیاهان میزبان میزان هورمون‌های سیتوکنین و جیبرلین افزایش می‌یابد که افزایش این هورمون‌ها به‌ویژه سیتوکنین می‌تواند شدت فتوسنتز را توسط باز شدن روزنه‌های هوایی که بر جابجایی و تنظیم محتوای کلروفیل مؤثر است، بهبود بخشد (آلن و چریستینسن، ۱۹۸۲). از طرفی قارچ میکوریزا به جذب منیزیم در گیاه کمک می‌کند، می‌تواند سنتز کلروفیل را افزایش دهد (گیری و همکاران، ۲۰۰۲). لوچه تساندیر و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که در گیاه سیب‌زمینی میکوریزایی شده با *G. intraradices*، محتوای کلروفیل بیش‌تری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی داشتند. بستامی (۱۳۹۲) با مطالعه اثر قارچ *G. mosseae* برگشنیز گزارش کردند که تلقیح با قارچ می‌تواند سبب افزایش ۱۰۰ درصدی میزان کلروفیل نسبت به شاهد شود. در پژوهشی گیاه *Strophostyles helvala* تلقیح شده با گونه *G. mosseae* به‌طور معنی‌داری میزان کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی داشت (تاسانگ و موم، ۱۹۹۹). تانگ و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی خود بر روی ذرت مشاهده کردند که مایه‌زنی ذرت با قارچ میکوریزا سنتز کلروفیل در گیاه را بهبود بخشید و فتوسنتز را نیز افزایش داد. طی آزمایشی مشخص شد که تلقیح گیاه شبدر با قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش سطح برگ‌ها و در نتیجه افزایش میزان کلروفیل آنها شده و نهایتاً سرعت فتوسنتز خالص را در کل دوره رشد گیاه افزایش می‌دهد (وریس و همکاران، ۱۹۹۸). در پژوهشی دیگر تلقیح گیاه باقلا با قارچ میکوریزا، رنگدانه های فتوسنتزی به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (عبدل فتاح و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین تلقیح گیاه ذرت با قارچ‌های میکوریزا نیز نشان داد کلروفیل برگ گیاه نسبت به شاهد افزایش نشان می‌دهد (فانگ و همکاران، ۲۰۰۲). در آزمایشی تاکور و رائو (۱۹۹۷) گزارش کردند که تلقیح میکوریزا در لوبیا باعث افزایش ۱۱ درصد در میزان کلروفیل برگ این گیاه نسبت به شاهد شد. محمودی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند قارچ *G. mosseae*، غلظت کلروفیل کل لوبیا را ۳/۰۷ درصد نسبت به شاهد غیر میکوریزایی افزایش داد. با توجه به نتایج دو آزمایش می

توان اظهار داشت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن به همراه تلقیح میکوریزایی به‌ویژه قارچ *G. intraradices* می‌تواند میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را در گیاه سیاهدانه افزایش دهد.

**۴-۱-۱-۲ - کاروتنوئید**

**آزمایش گلدانی**

نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد، تنها اثر اصلی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و تیمار کودهای زیستی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد و اثر متقابل دو تیمار از تأثیر معنی‌داری برخودار نبودند (پیوست۱).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد همراه با محلول‌پاشی نانو اکسید آهن، میزان کاروتنوئید در برگ های گیاه دارویی سیاهدانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری که بیشترین مقدار کاروتنوئید با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن (با میانگین ۱/۲۹ میلی‌گرم در گرم بافت تر) حاصل شد که با محلول‌پاشی ۱/۵ گرم نانو اکسید آهن (با میانگین ۱/۲۵ میلی‌گرم در گرم بافت تر) تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان آن نیز در شرایط عدم محلول‌پاشی نانو اکسید آهن با میانگین ۱/۱۵ میلی‌گرم در گرم بافت تر حاصل شد (جدول ۴-۱).

تیمار کودهای زیستی نیز توانست میزان کاروتنوئید در گیاه سیاهدانه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دهد، به‌طوری که بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار با قارچ *G. intraradices* با میانگین ۱/۳۸ میلی‌گرم در گرم بافت تر حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با *G. mosseae* با میانگین ۱/۳۷ میلی‌گرم در گرم بافت تر نداشت و تلقیح گیاه با دو گونه باکتری محرک رشد ازتوباکتر و آژوسپریلیوم (به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۲۵ و ۱/۲۳ میلی‌گرم در گرم بافت تر به‌ترتیب در رتبه بعدی قرار گرفتند (جدول ۴-۱).

جدول ۴-۱ مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان کاروتنوئید

| تیمار | کاروتنوئید (آزمایش گلدانی) (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | کاروتنوئید (آزمایش مزرعه‌ای) (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) |
|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | |
| شاهد | ۱/۱۵ b | ۰/۹۵ c |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۱/۲۵ a | ۱/۰۳ b |
| ۳گرم در لیتر | ۱/۲۹ a | ۱/۱۴ a |
| کود زیستی | | |
| شاهد | ۰/۹۳ c | ۰/۵۱ d |
| *G. intraradices* | ۱/۳۸ a | ۱/۴۴ a |
| *G. mosseae* | ۱/۳۷ a | ۱/۴۴ a |
| آزوسپریلیوم | ۱/۲۳ b | ۱/۰۱ b |
| ازتوباکتر | ۱/۲۵ b | ۰/۷۷ c |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

## آزمایش مزرعه‌ای

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش مزرعه‌ای نیز بیانگر آن بود که تنها اثرات اصلی تیمارهای مورد بررسی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان کاروتنوئید سیاهدانه داشت و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی از تأثیر معنی‌داری بر خوردار نبود (پیوست ۲).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۴-۱مشخص شد، بین سطوح محلول‌پاشی نانو اکسید آهن تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود دارد به‌طوری که با افزایش غلظت نانو اکسید آهن میزان کاروتنوئید برگ افزایش یافت. بیشترین میزان کاروتنوئید در طی محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن با میانگین ۱/۱۴ میلی‌گرم در گرم بافت تر مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۶/۳۲ درصد افزایش داشت. محلول‌پاشی نانو اکسید آهن با غلظت ۱/۵ گرم در لیتر نیز با میانگین ۱/۰۵ میلی‌گرم در گرم بافت تر نیز توانست میزان کاروتنوئید را ۵/۱ درصد نسبت به شاهد افزایش دهد.

مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۴-۱ نشان داد، میزان کاروتنوئید در تیمارهای مختلف کودهای زیستی تفاوت معنی‌دار قابل ملاحظه‌ای داشت. بیشترین میزان کاروتنوئید در گیاهان تلقیح شده با دو گونه قارچ میکوریزا با میانگین ۱/۴۴ میلی‌گرم در گرم بافت تر مشاهده شد. سپس باکتری

آزوسپیریلیوم با میانگین ۱/۰۱ میلی‌گرم تر گرم بافت تر و باکتری ازتو باکتر با میانگین ۰/۷۷ میلی گرم در گرم بافت تر در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان کاروتنوئید نیز در تیمار شاهد با میانگین ۰/۵۱ میلی‌گرم در گرم بافت تر مشاهده شد.

کاروتنوئیدها رنگدانه‌های کمکی هستند که در جذب و انتقال نور تأثیر دارند و حفاظت کننده‌های کلروفیلی در طی فرایند اکسیداسیون نوری محسوب می‌شوند (اکبریان و همکاران، ۲۰۱۲). نتایج این تحقیق نشان داد همراه با محلول‌پاشی نانو اکسید آهن، میزان کاروتنوئید در برگ‌های گیاه دارویی سیاهدانه به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد به‌طوری‌که همراه با افزایش غلظت نانو اکسید آهن، میزان کاروتنوئید نیز افزایش یافت. در واقع عنصر آهن برای سنتز کلروپلاست و کارتنوئیدها لازم است (شاملو و روزبهانی، ۱۳۹۴)، بنابرین افزایش آهن، سنتز کاروتنوئیدها را افزایش می‌دهد. برای نمونه محلول‌پاشی عنصر ریزمغذی آهن تأثیر بسزایی در افزایش میزان کاروتنوئید در گیاه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) داشت (لنگ و همکاران،۲۰۰۰). در پژوهشی دیگر بر روی گیاه گلرنگ، محلول‌پاشی نانو کلات آهن در مقایسه با تیمار شاهد میزان کارتنوئیدها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (قربانپور، ۲۰۱۵). در آزمایش حیدری و همکارن (۱۳۹۴) نیز محلول‌پاشی یک گرم در لیتر نانواکسید آهن در شرایط تنش خشکی در گیاه کنجد سبب افزایش معنی‌دار میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. همچنین یوسف‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) افزایش ۴۵ درصدی میزان کاروتنوئید را با محلول‌پاشی ۲ گرم در لیتر نانو اکسید آهن نسبت به شاهد را گزارش کردند. کمبود آهن در گیاه علاوه بر کاهش سنتز کلروپلاست، می‌تواند با کاهش محسوس کاروتنوئید همراه شود، چرا که این رنگدانه‌ها در غشای کلروپلاست جای دارند. به‌نظر می‌رسد دلیل افزایش میزان کاروتنوئید در غلظت های بالای آهن جهت جلوگیری از آسیب کلروفیل باشد. زیرا غلظت‌های زیاد آهن در گیاه باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد و افزایش تجمع این مواد در گیاه می‌شود (یوسف‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵).

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد تأثیر بسزایی در افزایش میزان کاروتنوئید برگ سیاهدانه نسبت به شاهد داشتند. مشابه نتایج این

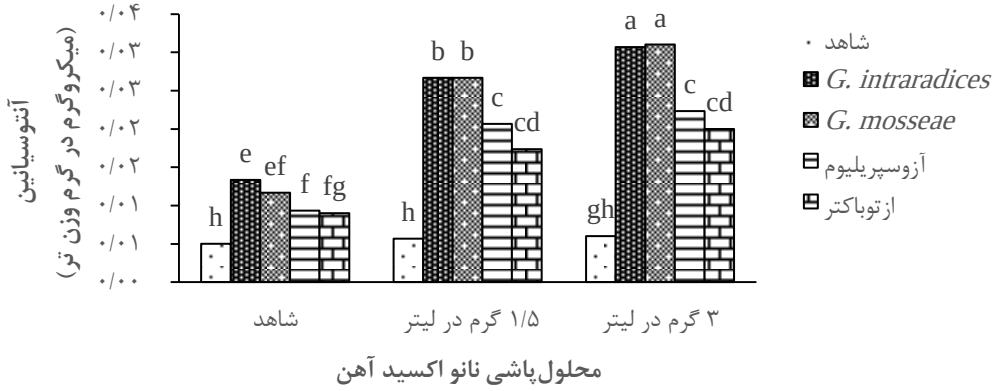
آزمایش بستامی (۱۳۹۲) نیز افزایش ۶۲ درصدی میزان کاروتنوئید گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ میکوریزا نسب به شاهد را گزارش کرد. محمودی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند قارچ *G. mosseae*، ۵/۵ درصد میزان کاروتنوئیدهای برگ لوبیا را نسبت به شاهد غیر میکوریزایی افزایش داد. در آزمایشی کاهش کلروزیس برگی در اثر تابش پرتو UV-C، در گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا به افزایش محتوای کاروتنوئید توسط این قارچها گزارش شد (رحمت‌زاده و جلیل، ۱۳۸۷). لوچه تساندییر و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که در گیاه سیب‌زمینی میکوریزایی شده با *G. intraradices*، محتوای کاروتنوئید بیش‌تری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی داشتند. در پژوهشی تلقیح گیاه باقلا با قارچ میکوریزا، رنگدانه های فتوسنتزی به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (عبدل فتاح و همکاران، ۲۰۰۲). بالا بودن سطح کاروتنوئید را در نمونه‌های میکوریزایی را می توان به بالا بودن جذب فسفر به‌عنوان یک حامل انرژی در طی فرایند فتوسنتز نسبت داد.

### ۴-۱-۲ آنتوسیانین

### آزمایش گلدانی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد علاوه بر اثرات جداگانه تیمارها، اثر متقابل دو تیمار محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آنتوسیانین برگ سیاهدانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (پیوست ۱).

همان‌طور که در شکل ۴-۷ مشاهده می شود با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و تلقیح با کودهای زیستی میزان آنتوسیانین در گیاه افزایش یافت. در این بین بیشترین میزان آنتوسیانین از مصرف توأم محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن به همراه دو گونه قارچ میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۰۳۱ و ۰/۰۳۰ میکروگرم در گرم بافت تر حاصل شد. سپس مصرف توأم این کودهای زیستی و محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن با میانگین ۰/۰۲۶ میکروگرم در گرم بافت تر در رتبه بعدی قرار داشت.




شکل ۴-۷- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آنتوسیانین (آزمایش گلدانی)

## آزمایش مزرعه‌ای

با توجه به نتایج تجزیه آماری داده‌های حاصل از آزمایش مزرعه‌ای تنها اثرات اصلی تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد بر میزان آنتوسیانین اندازه‌گیری شده در گیاه سیاهدانه معنی‌دار شد (پیوست ۲).

مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۴-۲ نشان داد با افزایش غلظت نانو اکسید آهن، میزان آنتوسیانین در برگ‌ها افزایش یافت به‌طوری که بیشترین میزان آنتوسیانین با محلول‌پاشی سه گرم در لیتر نانو اکسید آهن (با میانگین ۰/۱۷ میکروگرم در گرم بافت تر) سبب افزایش ۵۴/۵۴ درصدی نسبت به شاهد شد. محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن با میانگین ۰/۱۵ میکروگرم در گرم بافت تر نیز میزان آنتوسیانین را به میزان ۳۶/۳۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داد و در رتبه بعدی قرار داشت.

نتایج آزمایش محمدی و همکاران (۱۳۹۵) نشان داد با افزایش مقدار مصرفی نانو اکسید آهن میزان آنتوسیانین برگ نعناع فلفلی روندی افزایشی داشت. در مطالعه‌ای محلول‌پاشی سولفات آهن در گیاه زرشک (*Berberis vulgaris* L.) به‌طور معنی‌داری میزان آنتوسیانیین را افزایش داد (کالینوا و ورچتوا، ۲۰۱۱). در تحقیقی دیگر در گیاه گلرنگ محلول‌پاشی و مصرف خاکی کلات آهن، میزان آنتوسیانین برگ را در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (قربانپور، ۲۰۱۵). در

آزمایش میر و همکاران (۱۳۹۶) نیز محلول‌پاشی ۳ میلی لیتر در لیتر آب نسب به شاهد سبب افزایش معنی‌داری در میزان آنتوسیانین برگ گیاه چای ترش شد. این محققان اظهار داشتند افزایش آنتوسیانین با محلول‌پاشی آهن ممکن است به علت تأثیر عنصر آهن بر مشتقات ترکیب فنلی به‌عنوان پیش ماده سنتز آنتوسیانین ساختار فلاونوئید بوده باشد. از طرفی این افزایش در میزان آنتوسیانین می‌تواند با جلوگیری از آسیب به کلروفیل به افزایش فتوسنتز گیاه منجر شود. محقیقین گزارش کردند ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها از عوامل مهم در جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد در تنش‌های مرتبط با فلزات می‌باشند (شرما و هال، ۱۹۹۱). بنابرین افزایش آنتوسیانین‌ها یک حالت حفاظتی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تخریب مولکول‌های زیستی می‌باشد. همچنین آنتوسیانین‌ها به احتمال زیاد باعث تسهیل ورود فلزات سنگین به واکوئل سلول‌ها و در نتیجه جمع‌آوری آنها از سایر بخش‌ها می‌شوند (ترپاسی و همکاران، ۲۰۰۶). از این مطلب می‌توان این گونه برداشت کرد که در افزایش میزان آهن در تیمارهایی که آهن برگ گیاه افزایش یافته بود علاوه بر غلظت آهن مورد استفاده، تجمع فلزات سنگین در واکوئل‌ها (نقش آنتوسیانین‌ها) نیز می‌تواند مؤثر باشد. بنابراین شاید دلیل افزایش آنتوسیانین با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن در گیاه به دلیل تجمع آهن در گیاه باشد. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۲) نشان داد که تلقیح گیاه با کود های زیستی به‌طور معنی‌داری میزان آنتوسیانین را نسبت به شاهد (عدم تلقیح با کود زیستی) افزایش داد. همچنین بین کودهای زیستی مختلف نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. به گونه‌ای که بیشترین میزان آنتوسیانین در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* با میانگین ۰/۱۸۳ میکروگرم در گرم بافت تر مشاهده شد. سپس قارچ *G. mosseae* با میانگین ۰/۱۷۲ میکروگرم در گرم بافت تر میزان آنتوسیانین را به‌ترتیب به میزان ۷۹/۴۱ و ۶۸/۶۲ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. باکتری‌های محرک رشد آزوسپریلیوم و ازتوباکتر نیز به‌ترتیب سبب افزایش ۳۷/۲۵ و ۳۲/۲۵ درصدی میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد شدند.

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آنتوسیانین (آزمایش مزرعه‌ای)

| تیمار | آنتوسیانین (میکرو گرم بر گرم وزن تر) |
|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | |
| شاهد | ۰/۱۱ c |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۱۵ b |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۱۷ a |
| کود زیستی | |
| شاهد | ۰/۱۰۲ d |
| *G. intraradices* | ۰/۱۸۳ a |
| *G. mosseae* | ۰/۱۷۲ b |
| آزوسپریلیوم | ۰/۱۴۰ c |
| ازتوباکتر | ۰/۱۳۵ c |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

مشابه نتایج آزمایش حاضر در آزمایش توفیقی و همکاران (۱۳۹۵) نیز تلقیح گیاه گندم با قارچ میکوریزا آرباسکولار بر میزان آنتوسیانین برگی تأثیر معنی‌داری داشت و سبب افزایش آن شد. در بررسی محتوای آنتوسیانین برگ ریحان‌های سبز و بنفش برای تعیین تأثیر همزیستی قارچ با گیاه بر میزان این متابولیت ثانویه مشخص شد که مقدار آنتوسیانین برگ ریحان در گیاهان تیمارشده با قارچ آندومیکوریزا نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (شریفی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش اینگونه به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه دو گونه قارچ میکوریزا می‌تواند تأثیر بسزایی در افزایش میزان آنتوسیانین داشته باشد.

### ۴-۱-۳ - فلاونوئید

### آزمایش گلدانی

نتایج تجزیه آماری داده‌های حاصل از آزمایش گلدانی نشان داد در بین تیمارهای مورد بررسی تنها اثر کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید برگ سیاهدانه معنی‌دار شد و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن

و اثر متقابل دو تیمار تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونوئید برگ نداشت (پیوست ۱).با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان فلاونوئید در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ *G.mosseae* با میانگین ۳/۴۷ درصد و گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* با میانگین ۳/۴۶ درصد حاصل شد. سپس باکتری آزوسپریلیوم و ازتوباکتر (با میانگین‌های ۳/۲۰ درصد) در رتبه بعدی قرار گرفتند. کمترین مقدار نیز از تیمار شاهد با میانگین ۲/۸۶ درصد حاصل شد (جدول ۴-۳).

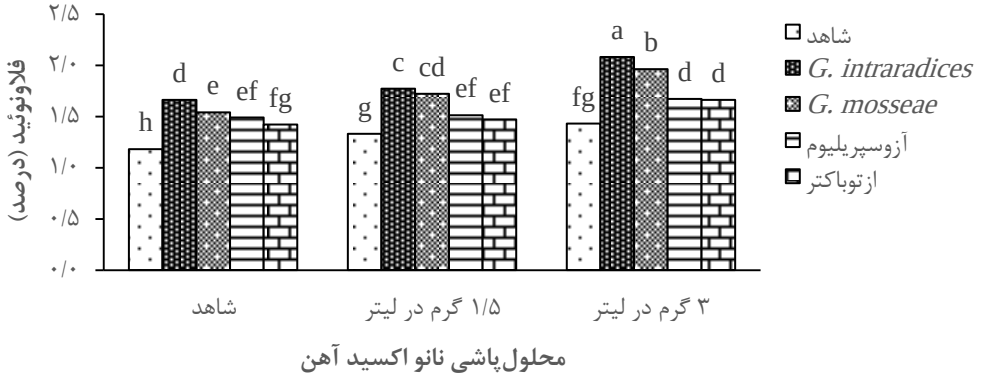
جدول ۴-۳- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید (آزمایش گلدانی)

| تیمار | فلاونوئید (درصد) |
|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | |
| شاهد | ۳/۱۲a |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۳/۲۴ a |
| ۳گرم در لیتر | ۳/۳۴ a |
| کود زیستی | |
| شاهد | ۲/۸۶ c |
| *G. intraradices* | ۳/۴۶ a |
| *G. mosseae* | ۳/۴۷ a |
| آزوسپریلیوم | ۳/۲۰ b |
| ازتوباکتر | ۳/۲۰ b |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

## آزمایش مزرعه‌ای

نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها نشان داد اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید برگ سیاهدانه در آزمایش مزرعه‌ای معنی‌دار شد (پیوست ۲).




شکل۴-۸- اثر متقابل محلول‌پاشی نانواکسیدآهن و کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید(آزمایش مزرعه‌ای)

همان‌طور که در شکل ۴-۸ نشان داده شده بیشترین میزان فلاونوئید از ترکیب ۳ گرم در لیتر نانواکسید آهن با قارچ *G. intraradices* (با میانگین ۲/۰۸ درصد) حاصل شد. سپس محلول‌پاشی سه گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه قارچ *G. mosseae* (با میانگین ۱/۹۶ درصد) در رتبه بعدی قرار گرفت. سپس محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه دو گونه قارچ میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۷۷ و ۱/۷۲ درصد سبب افزایش میزان فلاونوئید شدند.

علاوه بر قارچ‌های میکوریزا مصرف توأم محلول‌پاشی نانو اکسید و باکتری‌های محرک رشد نیز توانست میزان فلاونوئید برگ سیاهدانه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دهد اما تأثیر آنها نسبت به قارچ‌های میکوریزا کمتر بود. در این آزمایش کمترین میزان فلاونوئید نیز در گیاه شاهد (با میانگین ۱/۱۸ درصد) مشاهده شد. فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به دلیل ایجاد مکانیسم دفاعی، گیاهان را در برابر اشعه ماوراء بنفش و عوامل بیماریزا و گیاهخواران محافظت می کنند (کالینوا و ورچتوا، ۲۰۱۱). فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و در تنظیم فعالیت های آنزیمی و تولید متابولیت‌های اولیه نقش دارند. میزان فلاونوئیدها در گونه‌های مختلف گیاهی با مرحله رشد، بافت، واریته، تنش‌های محیطی مانند؛ اشعه ماوراء بنفش، خشکی، شرایط خاک، شخم، آفات و بیماری‌ها و کاربرد کودها مرتبط می‌باشد. مشابه نتایج این آزمایش محمدی و همکاران

(۱۳۹۵) نیز گزارش کردند میزان فلاونوئید با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانواکسید آهن افزایش می یابد. در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) محلول‌پاشی آهن اثر مثبتی بر افزایش رزمارینیک اسید (نوعی فلاونوئید) داشت (پسمیک و همکاران، ۲۰۰۹).

در آزمایش یوسف‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) محلول‌پاشی نانو کلات آهن با غلظت ۱/۵ و ۲ گرم در یک لیتر آب نیز میزان فلاونوئید افزایش یافت. در آزمایش این محققان هرچند با افزایش غلظت نانو کلات آهن میزان فلاونوئید افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت مورد استفاده مشاهده نشد. هم راستا با این نتایج مطالعات بر روی گیاهان مانند بادرنجبویه، مریم گلی، شمعدانی عطری، کلم قرمز و گلرنگ نشان داده تحت غلظت‌های بالای فلزات، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی و کارتنوئیدها در گیاه تولید شده و از گیاه محافظت می‌کنند (قربانپور، ۲۰۱۵؛ قربانپور و حاتمی، ۲۰۱۵؛ پسمیک و همکاران، ۲۰۰۹).

در رابطه با کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید، ویرهلینگ و همکاران (۲۰۰۰) تجمع فلاونوئید را در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا را گزارش کردند. در آزمایش نوربخش و همکاران (۱۳۹۲) کود زیستی نیتروکسین (حاوی ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) میزان فنل و فلاونوئید را در گیاه دارویی رزماری به‌طور معنی‌داری افزایش داد. امیری و همکاران (۱۳۹۶) با بررسی کودهای آلی روی گیاه گل گاوزبان ایرانی نشان دادند میزان فلاونوئید کل تحت تأثیر قارچ *G. mosseae* ۲۰ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به‌عنوان اولین آنزیم در مسیر فنیل پروپانوئید موجب تبدیل فنیل آلانین به ۴ کوماریل کوآنزیم A می‌شود که این ترکیب پیشساز فعال در تولید ترکیبات فلاونوئیدی است و از طرفی فنیل آلانین آمونیالیاز و کالون سینتاز هر دو در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها استفاده می‌شوند (کیلو و همکاران، ۱۹۹۸)، لذا به‌نظر می‌رسد نهاده‌های اکولوژیک مورد مطالعه احتمالا از طریق مکانیسم‌هایی نظیر انحلال ویتامین‌ها، ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها و آنتیبیوتیک های طبیعی و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی (مارولندا و همکاران، ۲۰۰۷)، سنتز آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز را فعال و در نتیجه منجر به افزایش میزان فلاونوئید و آنتوسیانین در گیاه

شدند. همچنین به‌نظر می‌رسد ترکیبات فنولیک در تعاملات بین گیاهان و قارچ‌ها بیشتر تولید می شود. در واقع قارچ با ایجاد تغییرات در خور توجه در فعالیت‌های آنزیمی و سازوکارهای فیزیولوژیک درگیر، به تجمع پلی فنل‌ها در گیاهان میزبان منجر می‌شود (باقری و همکاران، ۲۰۱۴). نتایج بررسی اروجی و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد که کاربرد قارچ میکوریزا بر میزان ترکیبات فنولیک کل در گیاهچه‌های شش ماهه شیرین بیان تأثیر معنی‌داری داشته است و این ترکیبات را تا چهار برابر افزایش داده است. مکانیسم احتمالی که ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئیدها را افزایش می‌دهد، می تواند بهبود تغذیه نیتروژن باشد. تایروزین و فنیل آلانین پیشسازهای مهم تولید ترکیبات فنولیک هستند. بنابراین، احتمال تثبیت بالای نیتروژن در گیاهان کلونیزه شده در تولید این اسید آمینه و سپس تولید بالای یکی از آنزیم‌های مهم درگیر در تولید ترکیبات فنولیک (آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز) وجود دارد. این آنزیم نخستین مرحله از بیوسنتز فنیل پروپانوئید که نقطه انشعابی میان متابولیسم اولیه و ثانویه است را کاتالیز می‌کند، همچنین، نقش مهمی در بیوسنتز فلاونوئیدها ایفا می‌کند (توسنت وهمکاران، ۲۰۰۴).

بنابراین با توجه به نتایج آزمایش حاضر به‌نظر می‌رسد که با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن از ۱/۵ به ۳ گرم در یک لیتر آب و گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی به‌ویژه قارچ‌های میکوریزا میزان فلاونوئید در گیاه سیاهدانه افزایش می‌یابد و مصرف توأم این دو تیمار تأثیر مثبتی در افزایش میزان فلاونوئید گیاه دارویی سیاهدانه خواهد داشت.

### ۴-۱-۴ آنزیم‌های آنتی اکسیدان (آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای)

#### ۴-۱-۴-۱ فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ و ریشه

**آزمایش گلدانی**

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش گلدانی نشان داد میزان فعالیت این آنزیم در برگ و ریشه سیاهدانه تحت تأثیر اثرات تیمارهای اصلی مورد بررسی شامل محلول‌پاشی نانو اکسید

آهن و کودهای زیستی (در سطح احتمال یک درصد) قرار گرفت و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی از تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت این آنزیم برخوردار نبود (پیوست ۳).

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (آزمایش گلدانی)

| تیمار | کاتالاز در برگ (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) | کاتالاز در ریشه (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) |
|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | |
| شاهد | ۰/۰۲۸ c | ۰/۰۲۴ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۰۳۰ b | ۰/۰۲۷ a |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۰۳۳ a | ۰/۰۲۷ a |
| کود زیستی | | |
| شاهد | ۰/۰۴۱ a | ۰/۰۳۰ a |
| *G. intraradices* | ۰/۰۲۷ d | ۰/۰۲۱ c |
| *G. mosseae* | ۰/۰۲۴ e | ۰/۰۲۳ bc |
| آزوسپریلیوم | ۰/۰۳۲ b | ۰/۰۲۵ b |
| ازتوباکتر | ۰/۰۳۰ c | ۰/۰۳۱ a |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

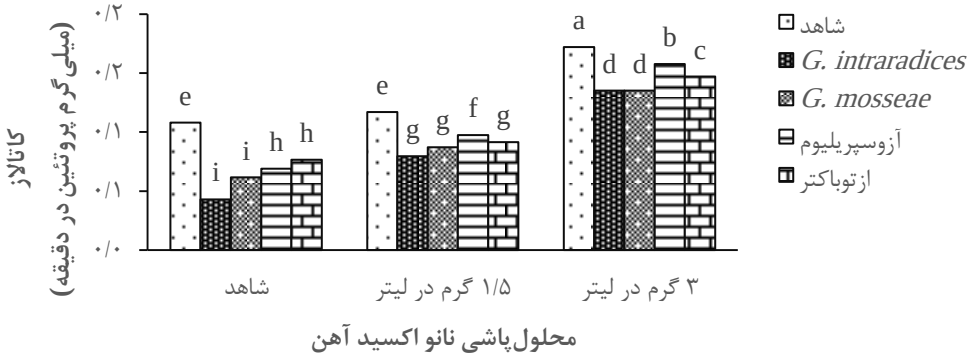
مقایسه میانگین داده‌ها جدول ۴-۴ نشان داد با محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ افزایش یافت به‌طوری که با افزایش غلظت نانو اکسید آهن بر میزان فعالیت این آنزیم افزوده شد. بیشترین مقدار با محلول‌پاشی ۳ گرم نانواکسید آهن در لیتر آب با میانگین ۰/۰۳۳ میلی گرم پروتئین در دقیقه حاصل شد. سپس محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانواکسید آهن با میانگین ۰/۰۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در رتبه بعدی قرار گرفت. کمترین میزان نیز در شرایط عدم محلول‌پاشی نانو اکسید آهن مشاهده شد. که به‌ترتیب میزان فعالیت این آنزیم را ۱۷/۸۵ و ۷/۱۴ درصد نسبت به شاهد (با کمترین میزان فعالیت آنزیم) افزایش دادند. همچنین محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان فعالیت این آنزیم در ریشه را ۱۲/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت، اما تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت مصرفی نانو اکسید آهن مشاهده نشد.

با توجه به نتایج آزمایش، تلقیح گیاه با کودهای زیستی نیز میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاه سیاهدانه کشت شده در گلدان را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد. همچنین بین کودهای زیستی نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط عدم تلقیح با کودهای زیستی (با میانگین ۰/۰۴۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد. بعد از آن گیاهان تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلیوم با میانگین ۰/۰۳۲ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ بودند. کمترین مقدار نیز در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* با میانگین ۰/۰۲۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد. تلقیح با این گونه از قارچ میکوریزا میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در برگ ۴۱ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۴-۴).

بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۴) تلقیح با کودهای زیستی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه سیاهدانه کشت شده در گلدان را نیز به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد. کمترین مقدار فعالیت این آنزیم درریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (با میانگین۰/۰۲۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) اندازه‌گیری شد که با *G.mosseae* (با میانگین ۰/۰۲۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و باکتری آزوسپریلیوم (با میانگین ۰/۰۲۵ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ریشه گیاهان تلقیح شده با باکتری ازتوباکتر (۰/۰۳۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و شرایط عدم تلقیح با کودهای زیستی (با میانگین ۰/۰۳۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد.

**آزمایش مزرعه ای**

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های اندازه‌گیری شده نشان داد اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (پیوست ۴).




شکل ۴-۹- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (آزمایش مزرعه‌ای)

همان‌طور که در شکل ۴-۹ ملاحظه می‌شود بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ سیاهدانه از محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن و عدم تلقیح کود زیستی با میانگین ۰/۱۷۲ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه حاصل شد. کمترین مقدار نیز در تیمار بدون محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و تلقیح با قارچ میکوریزا با میانگین ۰/۰۴۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه به‌دست آمد.

نتایج آزمایش نشان داد با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن از ۱/۵ گرم نانواکسید آهن به ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن میزان فعالیت آنزیم افزایش یافت و مصرف کودهای زیستی در هر سه سطح از محلول‌پاشی نانواکسید آهن میزان فعالیت آنزیم را نسبت به شاهد کاهش داد. این کاهش فعالیت آنزیم در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد محسوس تر بود. به‌طور کلی نتایج حاصل از آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای نشان داد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در گیاه افزایش داد و افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن از ۱/۵ به ۳ گرم در لیتر نیز توانست میزان فعالیت آنزیم را در برگ افزایش دهد.

گلشاهی و همکاران (۱۳۹۶) نیز با بررسی محلول‌پاشی آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه سورگوم گزارش کردند که با افزایش غلظت آهن از ۰/۲۵ به ۰/۵ گرم در لیتر آب میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه افزایش یافت. معاونی (۲۰۱۴) گزارش نمود که غلظت کاتالاز در تیمار نانو آهن در گیاه

سورگوم افزایش یافت. احتمـالاً ایـن افـزایش بـه‌علـت توانایی گیاه در ذخیره‌سازی بیشتر آهن آزاد شده از نانو آهن می‌باشد و بهترین سازوکار جذب آهن از سمت ریشه به ساقه رخ داده بود. شاید دلیل دیگر این افزایش، تأثیر آهن در فعالیت آنها باشد. گزارش شده است کمبود آهن درگیاهان نه تنها موجب کلروز می‌شود، بلکه فعالیت آنزیم‌های مشخصی مانند کاتالاز و پراکسیداز را نیز کاهش می‌دهد. زیرا این آنزیم‌ها دارای آهن پورفیرین هستند و به‌عنوان گروه‌های پروستتیک، نقش ویژه‌ای را در متابولیسم گیاهی ایفا می‌کنند (بنیستر و همکاران، ۱۹۸۷). در این رابطه مطالعه‌ای کاهش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز، در شرایط کمبود آهن را گزارش داده است (سان و همکاران، ۲۰۰۷).

بنابراین با توجه به نقش آهن در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، شاید بتوان کم بودن فعالیت آنزیم در تیمار شاهد در این آزمایش را توجیه کرد. شاید دلیل دیگر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به‌علت افزایش $H_2O_2$ و ایجاد سمیت در اثر افزایش آهن در گیاه باشد (مهربان و عبدلزاده، ۱۳۹۱). گزارش شده است که سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (میتلر، ۲۰۰۲). کاتالازها و پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی به شمار می‌آیند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش غیر زیستی دارند. افزایش غلظت آهن در گیاهان موجب ایجاد سمیت آهن و تولید انواع اکسیژن‌های فعال می‌شود که تنش اکسیداتیو را در گیاه القاء می‌کند. در شرایط طبیعی پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بخش‌های مختلف یاخته‌های گیاهان ایجاد می‌شود (آلوارزا و همکاران، ۲۰۰۲). در شرایط متداول کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به سادگی $H_2O_2$را تجزیه می‌کنند، اما در شرایط سمیت آهن، عدم خنثی شدن رادیکال‌های اکسیژن و باقیماندن پراکسید هیدروژن در گیاه منجر به واکنش فنتون و هابر وایس می‌گردد که در ازای آن رادیکال خطرناک هیدروکسیل تولید می‌شود که می‌تواند به صورت پی در پی انواع ماکرومولکول‌های زیستی از جمله لیپیدها و پروتئین را ناپایدار کند. نتیجه تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت آهن در گیاهان کاهش میزان پروتئین‌ها، قندهای محلول، کلروفیل و صدمات برگشت ناپذیر به غشای زیستی

و اسیدهای نوکلئیک است که توسط بسیاری از محققان گزارش شده است (کو و کائو، ۲۰۰۴؛ لی و همکاران، ۲۰۰۱).

در رابطه با تأثیر کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز در برگ و ریشه گیاه در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای، نتایج آزمایش نشان داد تلقیح گیاه سیاهدانه با کودهای زیستی توانست میزان فعالیت این آنزیم‌ها را در برگ و ریشه گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. کمترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها مربوط به قارچ‌های میکوریزا (به‌ویژه *G. intraradices*) بود. میزان کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در دو بخش ریشه و برگ‌ها در شرایط شاهد و تلقیح با *G. intraradices* به ترتیب معادل ۳۰ و ۳۴ درصد بودند و این کاهش برای فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ نمونه‌های برداشت شده از مزرعه معادل ۳۵ درصد بود.

نتایج آزمایش رفیعی دمنه و همکاران (۱۳۹۳) نیز نشان داد میزان گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در گیاهچه‌های فستوکای غیر میکوریزایی بیشتر از گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا بود و این امر را به توانایی قارچ میکوریزا در کاهش اثرات تنش نسبت دادند. با توجه به مشاهدات یو و همکاران (۲۰۰۹) گیاهان میکوریزی تولید گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش داده و بنابراین سنتز آنزیم‌های آنتی اکسیدان را کاهش می‌دهند. در آزمایش داوودی‌فرد و همکاران (۱۳۸۹) نیز میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای حاوی باکتری کاهش یافت و دلیل آن را قرار گرفتن گیاه در شرایط مناسب توسط باکتری بیان کردند. در شرایط نبود تنش گیاهچه‌های تلقیح شده کاهو با باکتری سودموناس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری را نسبت به تیمار شاهد (بدون باکتری) نشان دادند (کوهلر و همکاران، ۲۰۰۹). شاید دلیل دیگر کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی به دلیل اثر رقت (فیل و همکاران، ۲۰۰۵) که مربوط به افزایش رشد در اندام هوایی گیاه است باشد که این افزایش در وزن خشک گیاه توسط کودهای زیستی در این آزمایش (شکل ۴- ۱۴) مشخص شده است.

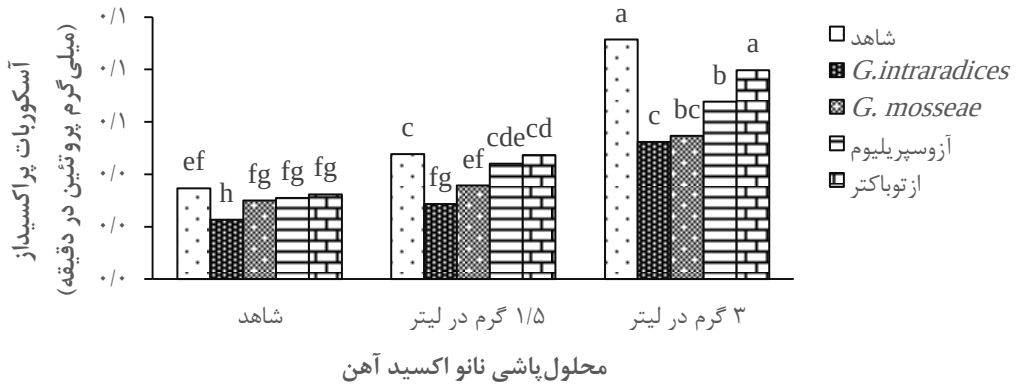
بنابراین با توجه به کمتر بودن فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای حاوی کودهای زیستی در این آزمایش، اینگونه به‌نظر می‌رسد که تلقیح با کودهای زیستی با افزایش رشد ریشه و جذب بیشتر آب و مواد غذایی گیاه سیاهدانه را در شرایطی بهینه قرار می‌دهد و سبب کاهش فعالیت آنزیم در گیاه می‌شود. از آنجایی که این مقدار در شرایط تلقیح با قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد کمتر بود. بنابراین اینگونه به نظر می‌رسد که قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد در ایجاد شرایط مساعد برای گیاه می‌توانند موثرتر واقع شوند.

**۴-۱-۴-۲ - فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ و ریشه**

**آزمایش گلدانی**

با توجه به تجزیه آماری داده‌های به دست آمده از آزمایش گلدانی اثرات متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن به همراه کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد و در مورد ریشه اثر اصلی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال ۵ درصد) و تیمار کود زیستی (در سطح احتمال ۱ درصد) از تأثیر معنی‌داری برخودار بودند و اثر متقابل دو تیمار معنی‌دار نشد (پیوست ۴).

همان‌طور که در شکل ۴-۱۰ مشاهده می‌شود محلول‌پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد و بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ در سطح محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن در لیتر بود. در این بین بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در طی استفاده از ۳ گرم نانو اکسید آهن و عدم مصرف کودهای زیستی با میانگین ۰/۰۹۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و باکتری ازتوباکتر با میانگین ۰/۰۸ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه حاصل شد. کمترین میزان فعالیت این آنزیم نیز در طی استفاده از قارچ میکوریزا *G. intraradices* و در حالت عدم محلول‌پاشی نانو اکسید آهن ۰/۰۲۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه به‌دست آمد.




شکل ۴-۱۰- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ (آزمایش گلدانی)

در مورد ریشه، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن (با میانگین ۰/۱۴۰ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد که ۶/۸۷ درصد میزان فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد افزایش داد. محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانواکسید آهن (با میانگین ۰/۱۳۷ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) نیز هر چند میزان فعالیت آنزیم را افزایش داد اما تفاوت معنی‌داری با شاهد (با میانگین ۰/۱۳۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) نداشت (جدول۴-۵).

تلقیح با کودهای زیستی نیز سبب کاهش فعالیت آنزیم در ریشه سیاهدانه شد. نتایج آزمایش نشان داد کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه به‌ترتیب از تلقیح با *G. intraradices*، قارچ *G. mosseae*، باکتری آزوسپریلیوم و باکتری ازتوباکتر حاصل شد که تلقیح با این کودهای زیستی به‌ترتیب میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در ریشه تقریبا ۴۶، ۳۱، ۱۶ و ۷ درصد نسبت به شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) کاهش داد (جدول ۴-۵).

جدول ۴-۵-مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه (آزمایش گلدانی)

| تیمار | آسکوربات پراکسیداز در ریشه (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) |
|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | |
| شاهد | ۰/۱۳۱ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۱۳۷ ab |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۱۴۰ a |
| کود زیستی | |
| شاهد | ۰/۱۷۱ a |
| *G. intraradices* | ۰/۰۹۲ e |
| *G. mosseae* | ۰/۱۱۷ d |
| آزوسپریلیوم | ۰/۱۴۳ c |
| ازتوباکتر | ۰/۱۵۸ b |

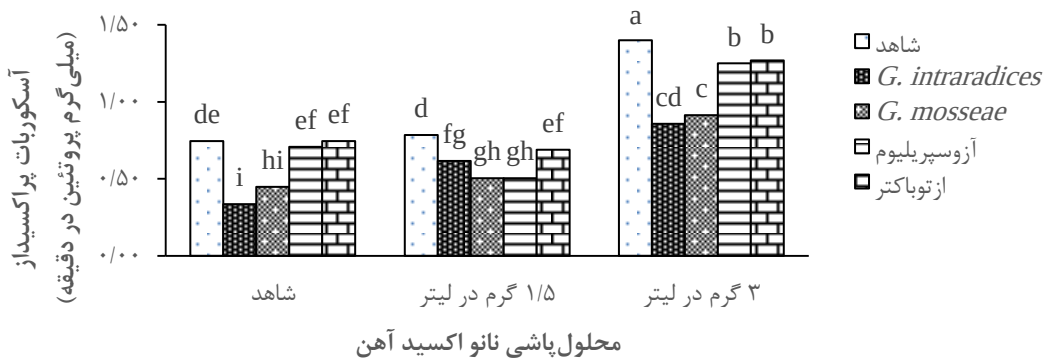
میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

## آزمایش مزرعه ای

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که علاوه بر اثرات جداگانه تیمارهای مورد بررسی، اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ معنی‌دار شد (پیوست ۴).

همان‌طور که در شکل ۴-۱۱ مشاهده می‌شود بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ با محلول‌پاشی ۳ گرم در یک لیتر آب حاصل شد و در این بین بیشترین میزان در شرایط محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن و عدم تلقیح با کودهای زیستی (با میانگین ۱/۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد. بعد از آن بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از مصرف توأم محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن و دو باکتری محرک رشد آزوسپریلیوم و ازتو باکتر (به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۲۶ و ۱/۱۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) به‌دست آمد. کمترین میزان فعالیت آنزیم نیز در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* بدون محلول‌پاشی نانو اکسید آهن مشاهده شد.

نتایج آزمایش نشان داد در هر سه سطح از محلول‌پاشی نانو اکسید آهن تلقیح با کودهای زیستی میزان فعالیت آنزیم را نسبت به شاهد (عدم تلقیح با کود زیستی) کاهش داد.




شکل ۴-۱۱-اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ (آزمایش مزرعه‌ای)

به‌طور کلی با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش به نظر می‌رسد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز می‌شود و افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن نیز به‌طور معنی‌داری فعالیت این آنزیم را در سیاهدانه افزایش می‌دهد. شاید دلیل این افزایش تأثیر آهن در فعالیت آنها باشد. سان و همکاران (۲۰۰۷) کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در شرایط کمبود آهن گزارش کرده‌اند. در آزمایشی نشان داده شد استفاده از آهن سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز هم در برگ و هم در ریشه در مقایسه با شاهد شد (سینها و سکسنا، ۲۰۰۲). در آزمایشی کمبود آهن منجر به کاهش کلی فعالیت آسکوربات پراکسیداز سیتوزولی، در جلبک اوگلنا شد (ایشیکاوا و همکاران، ۱۹۹۳). گزارش شده است که سلول‌های اوگلنا که کمبود آهن دارند، نمی‌توانند در حضور ۱۰۰ میلی‌مولار $H_2O_2$ نمو یابند، درحالی که سلول های دارای مقدار کافی آهن، نسبت به $H_2O_2$، از خود تحمل نشان دادند (رادتکه و همکاران، ۱۹۹۲). علاوه بر تأثیر آهن در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، افزایش غلظت عناصر کم مصرف مانند آهن در گیاه می‌تواند سبب سمیت و تولید گونه‌های فعال اکسیژن شود و افزایش آنزیم‌های آنتی

اکسیدان مانند آسکوربات پراکسیداز را در گیاه به‌دنبال داشته باشد (مهربان و عبدلزاده، ۱۳۹۱). در هر سه سطح محلول‌پاشی نانو اکسید آهن تلقیح با کودهای زیستی میزان فعالیت آنزیم را در گیاه سیاهدانه نسبت به شاهدکاهش داد و کمترین مقدار این آنزیم در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* مشاهده شد. در آزمایش سلیمانی و پیرزاد (۱۳۹۴) با بررسی چهار گونه قارچ میکوریزا، *fasiculatum*، *G. claroideum*، *Acaulospora longula*، *G. mosseae* و *G. intraradices* در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ گیاه زوفا نشان دادند که قارچ‌های میکوریزا میزان فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و در بین قارچ‌های میکوریزا مورد بررسی کمترین مقدار در گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* و *G. intraradices* مشاهده شد. قارچ‌های میکوریزا میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و موادی نظیر پرولین را در برگ گیاه میزبان نسبت به گیاهان غیر میزبان کاهش می‌دهند، زیرا معمولا گیاهان تلقیح شده با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان تلقیح نشده قادرند شرایط مسائد و دور از تنش برای گیاهان ایجاد کنند در نتیجه میزان این ترکیبات در گیاه کاهش می‌یابد (پرسل و ریزلوزانو، ۲۰۰۴).

### ۴-۱-۴-۳ فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در برگ و ریشه

### آزمایش گلدانی

نتایج تجزیه آماری داده‌های حاصل از آزمایش گلدانی حاکی از آن بود که تنها اثرات اصلی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال پنج درصد) و کودهای زیستی (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در برگ معنی‌دار شد (پیوست ۳).

میزان این آنزیم در ریشه نیز تحت تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی (در سطح احتمال ۱ درصد) قرار گرفت و اثرمتقابل دو تیمار مورد بررسی بر میزان فعالیت این آنزیم در ریشه معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۴-۶ نشان داد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان فعالیت این آنزیم در برگ افزود، به‌طوری‌که بیشترین مقدار با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید

آهن (با میانگین۰/۲۸۲ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد. محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن نیز هر چند میزان فعالیت این آنزیم را در برگ افزایش داد اما تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن میزان فعالیت این آنزیم را در ریشه به میزان ۱۶/۴۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن نیز هر چند میزان فعالیت این آنزیم را در ریشه به میزان ۸/۵۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داد اما تفاوت معنی داری با آن نداشت.

جدول ۴-۶- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (آزمایش گلدانی)

| تیمار | پلی فنول اکسیداز در برگ ( میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ) | پلی فنول اکسیداز در ریشه ( میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ) |
|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | |
| شاهد | ۰/۱۸۲ b | ۰/۱۲۸ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۱۹۰ b | ۰/۱۳۹ ab |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۲۸۲ a | ۰/۱۴۹ a |
| کود زیستی | | |
| شاهد | ۰/۲۴۷ a | ۰/۱۷۶ a |
| *G. intraradices* | ۰/۱۳۷ c | ۰/۱۱۱ c |
| *G. mosseae* | ۰/۱۴۱ c | ۰/۱۱۸ c |
| آزوسپریلیوم | ۰/۲۰۲ b | ۰/۱۴۰ b |
| ازتوباکتر | ۰/۲۰۹ b | ۰/۱۴۸ b |

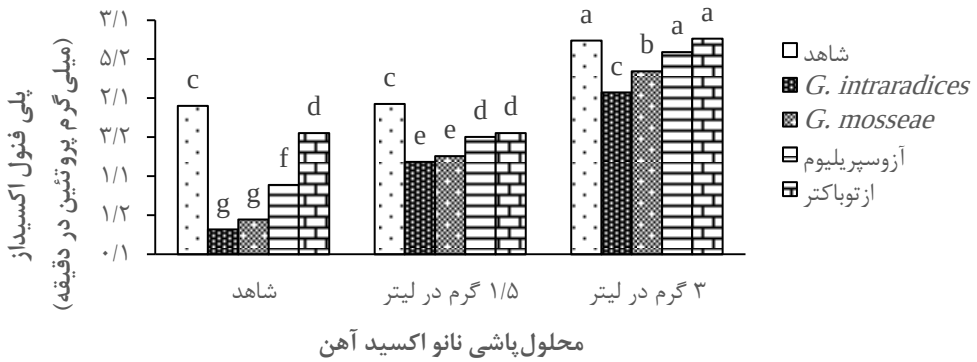
میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۶) بیانگر آن است که تلقیح با کودهای زیستی میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز را در برگ و ریشه گیاه سیاهدانه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد و بین کودهای زیستی نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نتایج این آزمایش نشان داد کمترین میزان فعالیت این آنزیم در برگ و ریشه گیاه سیاهدانه مربوط به دو گونه قارچ میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* بود. میزان کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در دو بخش ریشه و برگ‌ها در تیمار شاهد و تلقیح با *G. intraradices* به‌ترتیب معادل ۳۶/۹۳ و ۴۴/۵۳ درصد بودند. سپس باکتری‌های

محرک رشد به‌ترتیب آزوسپریلیوم و ازتوباکتر در کاهش میزان فعالیت آنزیم درگیاه موثر واقع شدند.

## آزمایش مزرعه ای

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش مزرعه‌ای نشان داد علاوه بر اثرات جداگانه تیمارهای مورد بررسی، اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (پیوست ۴).




شکل ۴-۱۲- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در برگ (آزمایش مزرعه‌ای)

همان‌طور که در شکل ۴-۱۲ ملاحظه می‌شود بیشترین میزان فعالیت آنزیم با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه عدم مصرف کود زیستی با میانگین ۲/۷۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد که مصرف توأم محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن و باکتری‌های محرک رشد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم (به‌ترتیب با میانگین‌های ۲/۷۴ و ۲/۵۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار نیز در شرایط عدم محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و استفاده از قارچ‌های میکوریزا با میانگین ۰/۳۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه حاصل شد (شکل ۴-۱۲). در این آزمایش نیز مشخص شد با افزایش غلظت نانو آهن بر میزان فعالیت آنزیم افزوده شد و همچنین تلقیح با کودهای زیستی نیز سبب کاهش فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شدند. هر چند محلول‌پاشی ۳

گرم نانو اکسید آهن به همراه باکتری‌های محرک رشد با محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن بدون تلقیح با کود زیستی تفاوت معنی‌داری نداشتند.

همان‌طور که در ارتباط با آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بیان شد آهن در فعالیت این آنزیم نیز نقش دارد. پلی‌فنول اکسیداز یا تیروزیناز آنزیمی دارای دو اتم مس در هسته مرکزی خود می‌باشد و اکسیداسیون دی فنل‌ها به کینون‌ها را انجام می‌دهد. این آنزیم در این واکنش از اکسیژن مولکولی به‌عنوان سوبسترا استفاده می‌نماید (مایر، ۲۰۰۶). افزایش فعالیت پلی‌فنول اکسیدازها تحت تیمار آهن اضافی گزارش شده است (بوگام و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در شرایط کمبود آهن توسط سان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش داده شده است. شیگوکا و همکاران (۲۰۰۲) نیز گزارش کردند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حاوی آهن بوده و تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرند. در این رابطه در آزمایشی نشان داده شد استفاده از آهن سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه و کاهش فعالیت آن در برگ گیاه ناز باتلاقی (*Bacopa monnieri* L.) شد. بنابراین افزایش میزان پلی‌فنول اکسیداز با افزایش میزان آهن علاوه بر تأثیری که آهن در ساختار این آنزیم دارد می‌تواند گویای افزایش $H_2O_2$ در گیاه باشد. مهربان و عبدلزاده (۱۳۹۱) افزایش$H_2O_2$ و ایجاد سمیت را در اثر بیشبود آهن در گیاه برنج گزارش کرده اند. شاید بتوان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در غلظت بالای نانو اکسید آهن را در این آزمایش به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در پاسخ به سمیت آهن در گیاه نسبت داد. در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای مشخص شد که تلقیح با کودهای زیستی میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز را در ریشه و برگ گیاه سیاهدانه کاهش داد و این کاهش در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* محسوس‌تر بود. به نظر می‌رسد که این کودهای زیستی با افزایش رشد ریشه و نفوذ بیشتر در خاک با جذب بیشتر آب و عناصر مورد نیاز گیاه، شرایط مساعدی برای گیاه ایجاد کرده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی که در پاسخ به تنش در گیاه ایجاد می‌شوند را کاهش می‌دهد. شاید دلیل دیگر کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز مربوط به افزایش ناگهانی رشد اندام هوایی گیاه توسط

قارچ‌های میکوریزا باشد که توسط اثـر رقـت قابـل توجیـه می‌باشد و توسط محققـین دیگـر گـزارش شـده اسـت (فیل و همکاران، ۲۰۰۵).

به‌طور کلی نتایج آزمایش حاضر کمتر بودن فعالیت آنزیم‌ها را در تیمارهای حاوی کودهای زیستی نشان می‌دهد و این مقدار در شرایط تلقیح با قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد کمتر بود. بنابراین اینگونه به‌نظر می‌رسد که قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد در ایجاد شرایط مساعد برای گیاه می‌توانند موثرتر واقع شوند.

## ۴-۲ - عناصر موجود در گیاه

### ۴-۲-۱ - عناصر موجود در دانه (آزمایش مزرعه‌ای)

#### ۴-۲-۱-۱ - غلظت نیتروژن دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد درصد نیتروژن در دانه گیاه دارویی سیاهدانه تنها تحت تأثیر کود زیستی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (پیوست ۷).

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۷) نشان داد میزان نیتروژن دانه در گیاهان تلقیح شده با کود های زیستی به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط عدم تلقیح افزایش یافت. در این بین کودهای زیستی نیز تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. به‌طوری که بیشترین میزان نیتروزن دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (با میانگین ۴/۸۵ درصد) اندازه‌گیری شد. سپس قارچ *G. mosseae* (با میانگین ۴/۴۹ درصد) در رتبه دوم قرار گرفت. باکتری‌های آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر (به‌ترتیب با میانگین‌های ۴/۲۱ و ۴/۰۵ درصد) میزان نیتروزن دانه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند هر چند تفاوت معنی‌داری بین دو باکتری مورد بررسی و قارچ *G. mosseae* مشاهده نشد. با توجه به نتایج آزمایش حاضر قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices*، *G. mosseae*، باکتری آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر میزان نیتروزن دانه سیاهدانه را به‌ترتیب ۴۰، ۳۰، ۲۲ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. مشابه نتایج این آزمایش در بررسی محمودزاده و همکاران (۱۳۹۴) نیز تیمارهای

باکتریایی و قارچی میزان نیتروژن را درگیاه نعناع فلفلی به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دادند. همچنین در آزمایش بستامی (۱۳۹۲) بین تلقیح میکوریزایی گیاه گشنیز (۲/۹ درصد) و عدم تلقیح (۲/۳۴ درصد) تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌نحوی‌که غلظت نیتروژن دانه در تلقیح با میکوریزا در حدود ۲۴ درصد بیشتر بود. این نتایج با نتایج پژوهش آریاگادا و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گیاه دارویی اکالیپتوس، مطابقت دارد. آنها مشاهده کردند که کاربرد دو گونه از قارچ میکوریزایی به‌نام‌های *G. mosseae* و *G. deserticola*، باعث افزایش قابل ملاحظه غلظت نیتروژن در گیاه اکالیپتوس به‌ترتیب (۲/۹۶ درصد) و (۳/۵۱ درصد) در مقایسه با عدم تلقیح (۱/۷۶ درصد) شد. پژوهشگران در این آزمایش، افزایش غلظت نیتروژن را به بهبودی که در رشد و نمو و مقدار کلروفیل برگ و متعاقب آن وزن خشک گیاه در اثر همزیستی میکوریزایی حاصل شده بود، نسبت دادند. حامل و اسمیت (۱۹۹۱) اظهار نمودند قارچ‌های میکوریزا غلظت عناصر غذایی را افزایش داده و باعث بهبود وضعیت غذایی گیاه میزبان می‌شوند. یافته‌های محمودی و همکاران (۱۳۸۲) نیز مبین آن بود که تلقیح ریشه گیاه پسته، با یک گونه میکوریزایی *Glomus dimorphism* باعث بهبود محسوس غلظت نیتروژن در گیاه در مقایسه با عدم تلقیح شد، آنها در تفسیر نتیجه حاصله، اظهار داشتند که افزایش غلظت نیتروژن و تحریک رشد اندام‌های هوایی گیاه با افزایش تغذیه فسفری همراه است، از این‌رو تأثیر قارچ میکوریزا بر روی میزان نیتروژن گیاه پسته، احتمالاً به‌طور غیرمستقیم از طریق بهبود وضعیت فسفر گیاه که ناشی از همزیستی میکوریزایی می‌باشد، اعمال می‌شود. باکتری‌های محرک رشد نیز با افزایش هورمـون سیتوکینین در گیاه میزبان، سـرعت انتقال نیترات از ریشه به شاخساره گیاه را افزایش می‌دهد (فلورس و همکاران، ۲۰۰۵).

**۴-۲-۱-۲ - غلظت فسفر دانه**

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تنها تأثیر کودهای زیستی بر غلظت فسفر دانه گیاه سیاهدانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (پیوست ۷).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها کودهای زیستی سبب افزایش غلظت فسفر دانه سیاهدانه شدند و در بین کودهای زیستی بیشترین میزان فسفر از تلقیح گیاه با قارچ *G. intraradices* با میانگین ۰/۶۷ درصد حاصل شد، تلقیح با این قارچ میزان فسفر دانه سیاهدانه را ۳۲ درصد نسبت به شرایط عدم تلقیح افزایش داد. قارچ G. *mosseae* با میانگین ۰/۵۸۹ درصد در رتبه بعدی قرار داشت که از لحاظ آماری با باکتری‌های محرک رشد آزوسپیریلیوم و ازتو باکتر (به ترتیب با میانگین‌های ۰/۵۵۸ و ۰/۵۵۱ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت و هر کدام از این تیمارها توانستند به‌ترتیب ۱۶، ۱۰ و ۸ درصد نسبت به شاهد سبب افزایش میزان فسفر دانه سیاهدانه شوند. کمترین مقدار فسفر دانه نیز در تیمار شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) با میانگین ۰/۵۰۷ درصد اندازه‌گیری شد (جدول ۴-۷). مشابه نتایج این آزمایش زمانی و همکاران (۱۳۹۷) با بررسی کودهای زیستی باکتریایی و قارچ‌های میکوریزا بر میزان فسفر دانه رازیانه گزارش کردند قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد میزان فسفر دانه رازیانه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. همچنین در آزمایش آنها تأثیر بیشتر قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد در افزایش میزان فسفر دانه گزارش شده است. در آزمایش بستامی (۱۳۹۲) نیز افزایش غلظت فسفر دانه گشنیز تلقیح شده با قارچ میکوریزا گزارش شده است. در آزمایش آنها میزان فسفر دانه گشنیز تلقیح شده با قارچ میکوریزا ۱۳/۴۴ درصد نسبت به شاهد بیشتر بود. در گیاه دارویی مریم گلی مشخص شد که با کاربرد قارچ میکوریزا جذب فسفر در یک خاک فقیر از فسفر افزایش یافت که دلیل آن به‌خاطر توسعه هیف‌های خارج ریشه‌ای بود که باعث افزایش سطح جذب کنندگی ریشه گردید (تاراف و همکاران، ۲۰۱۵). پژوهشگران دیگری در آزمایشی بر روی بابونه آلمانی نشان دادند که تیمار تلقیح با باکتری‌های پزودوموناس، ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در مقایسه با عدم تلقیح باعث افزایشی در حدود ۴/۵۴ درصد بر روی فسفر شد. در رابطه با تأثیر معنی‌دار این باکتری‌ها بر فسفر جذب شده توسط بابونه مشخص شده که باکتری‌های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه علاوه بر تثبیت نیتروژن باعث آزادسازی هورمون‌های گیاهی ازجمله جیبرلیک اسید و اکسین می‌گردند که باعث تحریک رشد گیاه، افزایش فتوسنتز و افزایش

جذب عناصر غذایی از جمله فسفر می‌گردد (صالحی و همکاران، ۱۳۹۰). ساخت اسیدهای معدنی (اسید کربنیک و اسید سولفوریک)، اسیدهای آلی (اگزالیک، سیتریک و الکتیک) توسط تیمارهای قارچی و باکتریایی و تولید آنزیم‌های فسفاتاز و در نتیجه انحلال فسفات‌های آلی و معدنی را می‌توان نام برد (تیلاک و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین به‌نظر می‌رسد در بین تیمارهای مورد بررسی همزیستی میکوریزایی (به‌ویژه *G. intraradices*) از طریق جذب مناسب فسفر و انتقال آن به گیاه سیاهدانه و نیز افزایش وزن خشک گیاه و به‌ویژه دانه، موجب بهبود غلظت فسفر می‌شود.

جدول ۴-۷- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان برخی عناصر در دانه (آزمایش مزرعه‌ای)

| تیمار | Fe (ppm) | N (%) | P (%) | K (%) |
|---|---|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | | | |
| شاهد | ۹۰/۸۶ c | ۴/۱۷ a | ۰/۵۴۸ b | ۱/۱۵۱ a |
| ۱/۵گرم در لیتر | ۹۸/۹۳ b | ۴/۰۶ a | ۰/۶۰۹ a | ۱/۱۵۱ a |
| ۳ گرم در لیتر | ۱۰۷/۳۳ a | ۴/۳۹ a | ۰/۵۸۴ ab | ۱/۱۳۲ a |
| کود زیستی | | | | |
| شاهد | ۶۳/۲۲ d | ۳/۴۴ c | ۰/۵۰۷ c | ۱/۱۱۰ c |
| *G. intraradices* | ۱۳۴/۱۱ a | ۴/۸۵ a | ۰/۶۷۰ a | ۱/۱۸۰ a |
| *G. mosseae* | ۱۲۳/۰۰ b | ۴/۴۹ ab | ۰/۵۸۹ b | ۱/۱۷۰ a |
| آزوسپریلیوم | ۱۰۴/۰۰ c | ۴/۲۱ b | ۰/۵۵۸ bc | ۱/۱۲۱ c |
| ازتوباکتر | ۷۰/۸۸ d | ۴/۰۵ b | ۰/۵۵۱ bc | ۱/۱۱۵ c |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

### ۴-۲-۱-۳ - غلظت پتاسیم دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تیمار کودهای زیستی بر میزان پتاسیم دانه سیاهدانه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت (پیوست ۷).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان پتاسیم دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* (به‌ترتیب ۱/۱۸ و ۱/۱۷ درصد) به‌دست آمد. تلقیح با این

دو گونه قارچ میکوریزا به‌ترتیب ۶/۳ و ۵/۴ درصد میزان پتاسیم دانه را نسبت به شاهد افزایش داد. کمترین مقدار نیز در تیمار شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) با میانگین ۱/۱۱ درصد مشاهده شد که با میزان پتاسیم دانه گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد تفاوت معنی‌داری نداشت. بنابراین بر اساس نتایج به‌دست آمده به‌نظر می‌رسد، تنها دو گونه قارچ میکوریزا را می‌توان به عنوان تیمارهایی جهت افزایش میزان پتاسیم دانه در سیاهدانه معرفی کرد.

در گشنیز، غلظت پتاسیم دانه در تلقیح با میکوریزا و کود فسفات زیستی در مقایسه با تیمار عدم تلقیح حدود ۶۹ درصد افزایش یافت که در اینجا یک اثر تقویت کننده در تیمار تلقیح با میکوریزا و کود زیستی به طرز محسوسی نمایان می‌شود (بستامی، ۱۳۹۲). در همین رابطه در پژوهشی که توسط آریاگادا و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گیاه دارویی اکالیپتوس انجام شد، ملاحظه شد که در کشت این گیاه همراه با سویا و در شرایطی که از دو گونه قارچ میکوریزا به‌نام‌های *G. mosseae* و *G. deserticola*، استفاده شد، تنها همزیستی میکوریزایی گونه *G. deserticola* با ریشه گیاه اکالیپتوس، موجب بهبود بارز غلظت پتاسیم (۱/۵۲ درصد) در این گیاه در مقایسه با شاهد (۱/۱۷ درصد) شد. آنها دریافتند که حضور سویا در کنار اکالیپتوس نه تنها هیچ‌گونه اثر بازدارندگی و رقابتی روی ریشه این گیاه نداشت بلکه سبب تشدید همزیستی میکوریزایی در اکالیپتوس شد. به‌طوری ریشه میکوریزایی سویا به‌عنوان یک منبع تلقیح میکوریزایی اضافی برای ریشه اکالیپتوس عمل نموده و با مشارکت یکدیگر ضمن بهبود جذب پتاسیم باعث افزایش رشد و وزن خشک گیاه اکالیپتوس شد. در تحقیق مرتبط دیگری که توسط شاکلی و همکاران (۲۰۰۴) بر روی نوعی شبدر بومی آمریکا درتلقیح با گونه‌ای از قارچ میکوریزا به نام *G. interadices* سبب افزایش غلظت پتاسیم گیاه (۱/۷۸ درصد) در مقایسه با تیمار شاهد (۰/۸ درصد) شد. آنها اظهار کردند بهبود همزیستی میکوریزایی که موجب گسترش و نفوذ مطلوب هیف‌های خارجی قارچ به منافذ باریک خاک شده و باعث می‌شود که حجم خاک قابل دسترس گیاه افزایش یابد و به‌دنبال آن جذب عنصر پتاسیم که درلایه‌های پایین‌تر خاک قرار دارد، بیشتر می‌شود.

### ۴-۲-۱-۴ - غلظت آهن دانه

طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تیمارهای محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آهن دانه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد داشتند و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی از تأثیر معنی‌داری بر میزان این صفت در گیاه سیاهدانه برخوردار نبود (پیوست ۷).

مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با محلول‌پاشی نانواکسید آهن میزان آهن دانه به‌طور معنی داری افزایش یافت. نتایج آزمایش نشان داد بیشترین میزان آهن در دانه با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن (۱۰۷/۳۳ ppm) سپس با محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن (ppm ۹۸/۹۳) حاصل شد. کمترین مقدار نیز در تیمار شاهد (۹۰/۸۶ ppm) مشاهده شد. محلول‌پاشی ۳ و ۱/۵ گرم در لیتر نانواکسید آهن توانست میزان آهن دانه را به میزان ۱۸/۱۲ و ۸/۸۱ درصد نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۴-۷).

مشابه نتایج آزمایش حاضر شیخ بگلو و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (با غلظت ۰/۷۵ گرم در لیتر آب) اثر مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان آهن دانه سویا داشته است. در آزمایش ال- فولیل و همکاران (۲۰۱۱) و پهلوان راد و همکاران (۱۳۸۷) نیز محلول‌پاشی آهن سبب افزایش غلظت آهن دانۀ گندم شد. بیاتی و همکاران (۱۳۹۳) در آزمایشی با بررسی غلظت‌های مختلف نانو آهن در گیاه کلزا نشان دادند با افزایش غلظت نانو آهن بر میزان آهن دانه افزوده می‌شود و دلیل این افزایش را نتیجه بهبود تولید آسیمیلات‌های ناشی از فتوسنتز جاری و همچنین انتقال مجدد و مطلوب مواد به دانه بیان کردند.

با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۷) میزان آهن دانه سیاهدانه در گیاهان تیمار شده با کودهای زیستی به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. به‌طوری که بیشترین میزان آهن به‌ترتیب در دانه گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (۱۳۴/۱۱ ppm)، *G.mosseae* (۱۲۳ ppm) و باکتری آزوسپیریلیوم (۱۰۴ ppm) حاصل شدند. در بین کودهای زیستی مورد مطالعه

باکتری ازتوباکتر هر چند میزان آهن دانه را افزایش داد اما تفاوت معنی‌داری با شاهد (با میانگین ppm ۶۳/۲۲) نداشت.

نتایج این تحقیق با نتایج ساجدی و رجالی (۱۳۹۰) که اظهار نمودند تلقیح گیاه ذرت با قارچ میکوریزا سبب افزایش ۵ درصدی میزان آهن دانه نسبت به عدم تلقیح می‌شود مطابقت دارد. در آزمایش ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۵) نیز تلقیح میکوریزایی گیاه سویا سبب افزایش ده درصدی میزان آهن دانه نسبت به شاهد شد. نتایج آزمایش محمودزاده و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که کاربرد باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار نقش موثری در افزایش جذب آهن در گیاه نعناع فلفلی دارند. دلیل اصلی افزایش جذب آهن در تیمارهای قارچی و باکتریایی، ترشح سیدروفورهای میکروبی می‌باشد. به‌واسطه حضور سیدروفورها، قابلیت استفاده و تحرک آهن در محیط ریشه افزایش یافته و کمپلکس سیدروفور - آهن تشکیل شده می‌تواند در محلول خاک همراه با جریان توده‌ای به سطح ریشه برسد و آهن جذب گردد (یهودا و همکاران، ۱۹۹۶). این در حالی است که در برخی مطالعات، میکوریز سبب کاهش غلظت عناصر کم مصرف در گیاهان مختلف شده است. برای مثال، نتایج آزمایش‌های آقابابایی و رئیسی (۱۳۸۸) نشان داد که میکوریز غلظت آهن را در اندام هوایی گیاهان بادام ٪۸۰ کاهش داد. در حالی که غلظت سایر عناصر کم مصرف در آن افزایش یافت. آنها اظهار داشتند که آهن جذب شده توسط گیاه به شکلی در ریشه تجمع پیدا کرده و نتوانسته است به اندام‌های هوایی گیاهان همزیست انتقال یابد. آنها افزایش میزان فسفر ریشه در گیاهان همزیست و رسوب آهن در ریشه را عامل کاهش انتقال آهن به اندام هوایی ذکر کردند.

### ۴-۲-۲ - عناصر غذایی موجود در ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

#### ۴-۲-۲-۱ - محتوای نیتروژن در ریشه و اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد میزان نیتروژن در اندام هوایی (پیوست ۸) و ریشه (پیوست ۹) گیاه سیاهدانه در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تحت تأثیر کودهای زیستی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تلقیح با کودهای زیستی سبب افزایش میزان نیتروژن در اندام هوایی و ریشه سیاهدانه شد. بین کودهای زیستی نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد.

جدول ۴-۸- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان نیتروزن در ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

| تیمار | نیتروژن در ریشه (درصد) | نیتروژن در اندام هوایی (درصد) |
|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | |
| شاهد | ۰/۶۷۵ a | ۱/۱۷۸ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۷۲۳ a | ۱/۲۲۴ ab |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۷۱۹ a | ۱/۲۶۱ a |
| کود زیستی | | |
| شاهد | ۰/۵۴۶ c | ۰/۸۶۵ d |
| *G. intraradices* | ۰/۹۰۹ a | ۱/۴۸۸ a |
| *G. mosseae* | ۰/۷۹۰ b | ۱/۲۹۸ b |
| آزوسپریلیوم | ۰/۷۱۱ b | ۱/۲۹۲ b |
| ازتوباکتر | ۰/۵۷۱ c | ۱/۱۶۲ c |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

نتایج آزمایش نشان داد بیشترین میزان نیتروژن با میانگین ۰/۹۰۹ درصد در ریشه گیاهان تلقیح شده با *G. intraradices* حاصل شد. سپس ریشه گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* و آزوسپریلیوم به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۷۹۰ و ۰/۷۱۱ درصد دارای بیشترین میزان نیتروژن بودند. کمترین میزان نیتروژن نیز در گیاهان شاهد (عدم تلقیح با کود زیستی) با میانگین ۰/۵۴۶ درصد حاصل شد که تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و تلقیح با باکتری ازتوباکتر مشاهده نشد (جدول ۴-۸).

بیشترین میزان نیتروژن در اندام هوایی نیز در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* با میانگین ۱/۴۸۸ درصد حاصل شد. سپس تلقیح با *G. mosseae* و باکتری آزوسپریلیوم (به ترتیب با میانگین‌های ۱/۲۹۸ و ۱/۲۹۲ درصد) و بعد از این تیمار ها تلقیح با باکتری ازتوباکتر (با میانگین ۱/۱۶۲ درصد) سبب افزایش میزان نیتروژن در اندام هوایی نسبت به شاهد در گیاه سیاهدانه شدند (جدول ۴-۸).

نتایج این آزمایش نشان داد که کودهای زیستی *G. intraradices*، *G. mosseae*، آزوسپریلیوم و ازتوباکتر توانستند به‌ترتیب به میزان ۷۲، ۵۰، ۴۹ و ۲۳ درصد سبب افزایش میزان نیتروژن در اندام هوایی سیاهدانه شوند. همچنین این کودهای زیستی به‌ترتیب ۶۶/۴۷، ۴۴/۶۸، ۳۰/۲۱ و ۴/۵۷ درصد نسبت به شاهد میزان نیتروژن در ریشه را افزایش دادند.

گزارشات زیادی مبنی بر افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه در نتیجه تلقیح با کودهای زیستی وجود دارد. از جمله کلیکوئیت و استیوارت (۱۹۹۳) گزارش دادند که فعالیت نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در ریشه‌ها و اندام هوایی گیاهان ذرت به‌دنبال آغشته شدن با *G. fasciculatum* افزایش می‌یابد که سبب افزایش میزان نیتروزن در ریشه و اندام هوایی گیاه خواهند شد. همچنین سابرامانیان و چارست (۱۹۹۸) نشان دادند که با کلونیزاسیون میکوریزا در ذرت، فعالیت آنزیم‌های کلیدی موثر در احیاء نیترات مانند نیترات ردوکتاز ،گلوتامین سنتتاز و گلوتامات سنتتاز به‌ویژه در شرایط خشکی تحریک می‌شود. باتاری و هس (۱۹۹۳) مشاهده کردند که تلقیح گندم با آزوسپریلیوم جدا شده از واریته‌های بومی، موجب افزایش نیتروژن کل اندام هوایی به میزان ۳۹ درصد شده است.

اختر و سیدیکوئی (۲۰۰۸) مقادیر نیتروژن بیشتری در اندام‌های هوایی گیاهان نخودفرنگی تلقیح شده با باکتری‌های ریزوبیوم و سودوموناس اندازه‌گیری کردند. در تحقیقی همسان تیلاک و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند، تلقیح ریزوبیوم و باسیلوس بیشترین مقادیر جذب نیتروژن را در اندام هوایی گیاه نخودفرنگی ایجاد کردند. فلورس و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که باکتری‌های ریزوسفری،

میزان هورمـون سیتوکینین گیاه میزبان را افزایش می‌دهند. این هورمون، سـرعت انتقال نیترات از ریشه به شاخساره گیاه را افزایش می‌دهد. هودگ و همکاران (۲۰۰۲) نیز گزارش کردند که یکی از اثرات قارچ‌های میکوریزا بالا بردن افزایش جذب نیتروژن در گیاه میزبان می‌باشد. در آزمایش دهقانیان و همکاران (۱۳۹۶) میزان نیتروزن اندام هوایی ذرت‌های تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. در آزمایش محمودی و همکاران (۱۳۸۲) همزیستی میکوریزی، غلظت نیتروژن موجود در اندام هوایی و ریشه گیاه پسته را افزایش افزایش داد. در رابطـه با تأثیر تیمارهای باکتریایی و قـارچی مـی‌تـوان بیـان نمـود کـه جذب عناصر غذایی توسط گیاه تابع دو عامـل رشـد و توسـعه ریشه و فراهمی عناصر غذایی در خاک می‌باشـد (احتشامی و همکاران، ۱۳۹۲). بنـابراین، می‌توان از دلایل قابل ذکر در این زمینه به توسعه سطح ریشـه و جذب بیشتر نیتروژن از خاک اشاره نمود که موجب زیاد شـدن میزان نیتروژن در اندام هوایی و ریشه گردیده است. بـاگو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که قارچ‌های میکـوریزی تـأثیر زیادی بر فیزیولوژی ریشه گیاهان گذاشته که سبب فعـال سـاختن گلوتأمین سنتتاز، آرژیناز و اوره آز شده و از ایـن طریـق غلظـت نیتروژن را در گیاهان میزبان افزایش می‌دهنـد . آرژینـاز و اوره آز از آنزیم‌های کلیدی در انتقال نیتروژن از میسلیوم به داخل ریشه گیاهان میزبان طی فراینـد همزیسـتی مـی باشـند. نیتـروژن توسـط میسلیوم‌های خارجی به فرم نیترات یا آمونیوم جذب و به‌وسیله گلوتأمین سنتتاز به ترکیبات آلی تبدیل می‌گردد (باگو و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین افزایش میزان نیتروژن در اندام‌های گیاه سیاهدانه تحت تأثیر تلقیح با کودهای زیستی دور از انتظار نبوده و چنین به نظر می رسد که قارچ *G. intraradices* بیشترین تأثیر را در افزایش جذب نیتروژن در گیاه سیاهدانه دارد.

**۴-۲-۲-۲ - فسفر ریشه و اندام هوایی**

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد میزان فسفر در اندام هوایی و ریشه گیاه سیاهدانه تنها تحت تأثیر تیمار کودهای زیستی قرار گرفت و تیمار کودهای زیستی تأثیر معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر آنها داشتند (پیوست ۸ و ۹). بیشترین میزان فسفر در اندام هوایی و ریشه گیاهان تلقیح

شده با قارچ *G. intraradices* (به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۲۴۰ و ۰/۱۴۵ درصد) حاصل شد. این قارچ توانست به‌طور تقریبی میزان فسفر در هر دو بخش ریشه و اندام هوایی گیاه را تا دو برابر نسبت به شاهد افزایش دهد. کمترین میزان فسفر در اندام هوایی و ریشه (به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۱۲۲ و ۰/۰۲۳ درصد) از تیمار شاهد حاصل شد. در این آزمایش تلقیح با قارچ *G. mosseae* ، آزوسپریلیوم و باکتری ازتوباکتر نیز سبب افزایش جذب و میزان فسفر در ریشه و اندام هوایی سیاهدانه شدند و به ترتیب در رتبه های بعدی قرار داشتند (جدول ۴-۹).

جدول ۴-۹- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فسفر اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی)

| تیمار | فسفر در ریشه (درصد) | فسفر در اندام هوایی (درصد) |
|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | |
| شاهد | ۰/۰۷۸ a | ۰/۱۶۵ a |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۰۷۷ a | ۰/۱۷۳ a |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۰۸۲ a | ۰/۱۷۶ a |
| کود زیستی | | |
| شاهد | ۰/۰۲۳ e | ۰/۱۲۲ d |
| *G. intraradices* | ۰/۱۴۵ a | ۰/۲۴۰ a |
| *G. mosseae* | ۰/۱۱۷ b | ۰/۲۱۶ b |
| آزوسپریلیوم | ۰/۰۷۱ c | ۰/۱۴۵ c |
| ازتوباکتر | ۰/۰۳۸ d | ۰/۱۳۴ cd |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

تدین و سلطانیان (۱۳۹۵) در آزمایش خود روی گیاه بزرک نشان دادند که تلقیح با قارچ *G. intraradices* ۲۱درصد جذب فسفر بیشتری نسبت به گیاهان بدون تلقیح داشتند. نتایج آزمایش ساجدی و رجالی (۱۳۹۰) نشان داد که کاربرد قارچ میکوریزا میزان جذب فسفر را در ذرت ۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. ماهاور و آلوک (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح پیاز(*Allium cepa* L.) با قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش معنی‌دار فسفر اندام هوایی نسبت به گیاهان تلقیح نشده گردید. نتایج آزمایش علی آبادی فراهانی و ولدآبادی (۱۳۸۹) در گیاه گشنیز حاکی از آن است که کاربرد قارچ میکوریزا سبب افزایش مقدار فسفر اندام هوایی گردید که دلیل این امر ساز و کار عمل قارچ

میکوریزا در جذب فسفر می‌باشد. پس از رویش اسپورهای قارچی و گسترش آنها در ریزوسفر بخشی از ریسه‌ها وارد سیستم ریشهٔ گیاه شده و سبب کاهش غلظت اسید آبسزیک گشته و میزان سیتوکنین را افزایش می‌دهند. این عمل باعث گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب آب می‌گردد. ریسه‌های برون ریشه‌ای نیز با ترشح اسیدهای آلی حل‌کننده فسفات‌های نامحلول نظیر اسید مالیک، جذب فسفر توسط گیاه را افزایش می‌دهند (خلوتی و همکاران، ۲۰۰۵). اهمیت قارچ‌های AM در تامین فسفر گیاه از طریق جذب و انتقال آن به واسطه هیف‌های قارچ ریشه‌ای نشان داده شده است. مهمترین عنصری که در اثر همزیستی با قارچ‌های میکوریزی، افزایش می‌یابد فسفر است (رویز-لوزانو، ۲۰۰۳). این کارایی در جذب و انتقال فسفر گاهی تا ۵۰ برابر سایر عناصر نیز برآورد شده است (کوپر و تینکر، ۱۹۷۸). قطر متوسط هیف‌ها ۳ تا ۴ میکرومتر است و هیف‌های نازک‌تر برای جذب فسفر از منافذ ریز خاک مناسب‌تر هستند. به‌طور کلی ساز و کارهای افزایش جذب فسفر توسط قارچ میکوریز در سه دسته فیزیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک تقسیم‌بندی می‌شوند (هیمن، ۱۹۸۳). برخی هیف‌ها ممکن است تا ده سانتی‌متر دورتر از سطح ریشه توسعه یابند .آنها می‌توانند ریزوسفر را از طریق افزایش تراوش پروتون یا افزایش فشار دی‌اکسید کربن، اسیدی کنند (ریگون و میگنارد، ۱۹۹۴) که می‌تواند فسفر را به‌ویژه در خاک‌های آهکی و خنثی متحرک کنند. در ارتباط با تأثیر باکتری‌های محرک رشد نیز گزارشات متعددی هم راستا با نتایج این آزمایش وجود دارد که نشان می‌دهد این باکتری‌ها می‌توانند در افزایش میزان فسفر در اندام‌های گیاه موثر واقع شوند. از جمله محسن و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی تأثیر کاربرد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در گندم، دریافتند که بالاترین غلظت فسفر در حضور این باکتری‌ها مشاهده شد. ساکیا و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشتند که بذور تلقیح شده ذرت با باکتری آزوسپریلیوم، افزایش معنی‌داری در میزان فسفر نشان داد. دقیقیان و همکاران (۱۳۹۰) نیز افزایش میزان فسفر در گیاه لوبیا تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد به روش بذر مال و محلول‌پاشی پای بوته را گزارش کردند. اما با توجه به نتایج این آزمایش قارچ‌های میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* از تأثیر بیشتری در میزان جذب فسفر در گیاه سیاهدانه برخوردار بودند.

### ۴-۲-۲-۳ - پتاسیم در ریشه و اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که میزان پتاسیم در ریشه و اندام هوایی سیاهدانه تنها تحت تأثیر تلقیح با کودهای زیستی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد و تیمار محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر میزان پتاسیم در دو بخش هوایی و ریشه نداشتند (پیوست ۸ و ۹).

با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۱۰) تلقیح با کودهای زیستی میزان پتاسیم را در اندام هوایی سیاهدانه و ریشه سیاهدانه به‌طور معنی‌داری افزایش داد و نوع‌های مختلف کودهای زیستی نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت. با توجه به نتایج این آزمایش بیشترین میزان پتاسیم در ریشه گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* به ترتیب با میانگین‌های ۱/۳۶ و ۱/۳۵ درصد مشاهده شد. تلقیح با این دو گونه قارچ توانست میزان پتاسیم را در اندام هوایی سیاهدانه به‌ترتیب به میزان ۱۹/۸۳ و ۱۶/۶۲ درصد نسبت به شاهد با کمترین میزان پتاسیم در ریشه و اندام هوایی (به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۱۲ و ۱/۳۱ درصد) افزایش دهد.

جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان پتاسیم اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی)

| تیمار | پتاسیم ریشه (درصد) | پتاسیم اندام هوایی (درصد) |
|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | |
| شاهد | ۱/۲۲ a | ۱/۴۲ a |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۱/۲۴ a | ۱/۴۱ a |
| ۳گرم در لیتر | ۱/۲۸ a | ۱/۴۷ a |
| کود زیستی | | |
| شاهد | ۱/۱۲ b | ۱/۳۱ c |
| *G. intraradices* | ۱/۳۶ a | ۱/۵۷ a |
| *G. mosseae* | ۱/۳۵ a | ۱/۵۲ ab |
| آزوسپریلیوم | ۱/۲۰ b | ۱/۴۲ bc |
| ازتوباکتر | ۱/۲۱ b | ۱/۳۱ b |

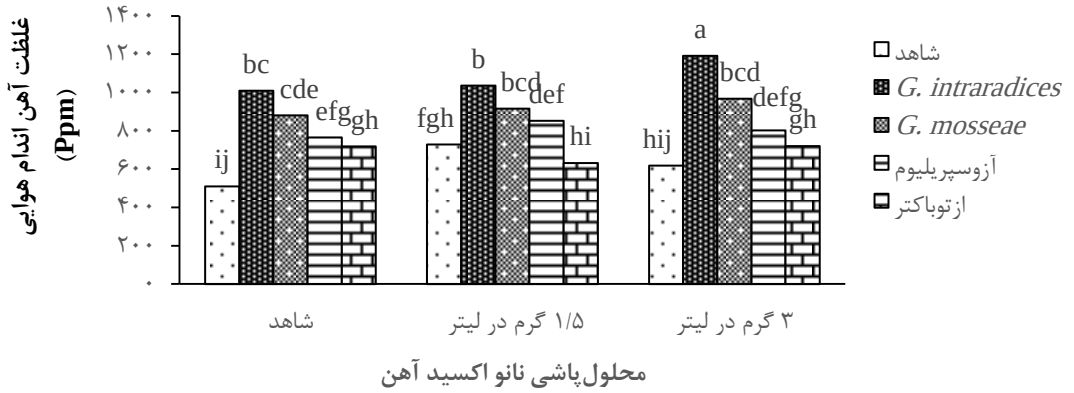
میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

نتایج مثبت استفاده از باکتری‌ها در تأمین نیاز پتاسیم گیاه و بهبود رشد گیاهان در مطالعات زیادی گزارش شده است (مینا و همکاران، ۲۰۱۵؛ لین و همکاران، ۲۰۰۲؛ لیلاسی مرند و ساریخانی، ۱۳۹۷). اما در این آزمایش تلقیح با این باکتری‌ها هرچند سبب افزایش میزان پتاسیم در گیاه شد اما تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند. بنابراین با توجه به نتایج آزمایش حاضر این گونه به نظر می‌رسد که قارچ‌های میکوریزا در افزایش جذب پتاسیم توسط گیاه سیاهدانه موثرتر از باکتری‌های محرک رشد هستند. نتایج بسیاری از تحقیقات بر افزایش جذب پتاسیم به‌وسیله تلقیح گیاهان با قارچ‌های میکوریزا تاکید دارند. در آزمایش اسماعیل‌پور و همکاران (۱۳۹۲) نیز میزان پتاسیم در اندام هوایی مرزه در گیاهان میکوریزایی به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی بیشتر بود. ناصری و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند که گندم تلقیح شده با قارچ میکوریزا به‌دلیل داشتن سیستم ریشه‌ای قوی‌تر میزان پتاسیم بیشتری را جذب می‌کند. در مطالعه خسروجردی و همکاران (۱۳۹۲) نشان داده شده است که قارچ میکوریزا با جذب مواد مغذی از طریق گسترش سیستم ریشه‌ای گیاه و کاوش خاک به وسیله هیف‌های خارجی در ریشه‌های مویی و کاهش فسفر، نیتروژن و پتاسیم آن ناحیه به جذب بیشتر این عناصر کمک می‌کند. رضوانی و همکاران (۱۳۸۸) با بررسی سویه‌های مختلف قارچ میکوریزا روی ویژگی‌های ریشه گیاه یونجه بیان کردند که این قارچ‌ها با ایجاد هیف‌های خارج ریشه‌ای حجم بیشتری از خاک را در بر می‌گیرند و سبب افزایش میزان پتاسیم در گیاه می شوند بنابراین، با این توضیحات، افزایش بیشتر میزان پتاسیم در تیمارهای میکوریزایی مستدل خواهد بود.

**۴-۲-۲-۴ - آهن در ریشه و اندام هوایی**

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد علاوه بر معنی‌دار بودن اثرات جداگانه تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد، اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) بر میزان آهن اندام هوایی داشت (پیوست ۸). همان‌طور که در شکل ۴-۱۳ مشاهده می شود بیشترین میزان آهن در اندام هوایی سیاهدانه از مصرف توأم ۳ گرم در لیتر به همراه

قارچ *G. intraradices* (با میانگین ppm ۱۱۹۲) حاصل شد و بعد از آن بیشترین میزان آهن از مصرف توأم ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به همراه قارچ *G. intraradices* با میانگین ppm ۱۰۳۶به‌دست آمد که بامیزان آهن در ترکیب تیماری ۳ گرم در لیتر به‌همراه قارچ *G. mosseae* (با میانگین ppm ۹۶۷) و کاربرد قارچ میکوریزا به تنهایی (با میانگین ppm ۱۰۰۹) تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار نیز در شرایط شاهد با میانگین ppm ۵۱۰ مشاهده شد.




شکل ۴-۱۳- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آهن اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

نتایج این آزمایش نشان داد علاوه بر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن که سبب افزایش میزان آهن در اندام هوایی گیاه می‌شود تلقیح با کودهای زیستی نیز میزان آهن را در گیاه نسبت به شرایط عدم مصرف کود زیستی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و در بین کودهای زیستی مورد استفاده قارچ‌های میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* نسبت به باکتری‌های محرک رشد در این افزایش موثرتر واقع شدند.

در مورد میزان آهن در ریشه، نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد، تنها اثر اصلی محلول‌پاشی نانو اکسید و تیمار کودهای زیستی معنی‌دار و اثر متقابل دو تیمار از تأثیر معنی‌داری برخودار نبودند (پیوست ۹)

نتایج آزمایش نشان داد با محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان آهن در ریشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین میزان آهن ریشه در تیمار محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر با میانگین ppm ۶۰۷/۳

حاصل شد. کمترین میزان نیز از تیمار شاهد با میانگین ۳۷۷/۶ ppm به‌دست آمد (جدول ۴-۱۱). کودهای زیستی نیز سبب افزایش معنی‌دار عنصر آهن در ریشه گیاه نسبت به شاهد شدند و بین انواع کودهای زیستی نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به این ترتیب که بیشترین میزان آهن به‌ترتیب در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (با میانگین ۸۳۶/۴ ppm)، قارچ *G.mosseae* (با میانگین ۷۳۲/۸ ppm)، باکتری آزوسپریلیوم (با میانگین ۵۳۰/۷ ppm) و ازتوباکتر (با میانگین ۴۱۹/۲ ppm) اندازه‌گیری شد و کمترین مقدارنیز در گیاهان شاهد بامیانگین ۳۲۳ ppm به‌دست آمد(جدول ۴-۱۱).

جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان آهن ریشه (آزمایش گلدانی)

| تیمار | آهن در ریشه (ppm) |
|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | |
| شاهد | ۵۲۰/۴ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۵۷۷/۶ ab |
| ۳گرم در لیتر | ۶۰۷/۳ a |
| کود زیستی | |
| شاهد | ۳۲۳/۰ e |
| *G. intraradices* | ۸۳۶/۴ a |
| *G. mosseae* | ۷۳۲/۸ b |
| آزوسپریلیوم | ۵۳۰/۷ c |
| ازتوباکتر | ۴۱۹/۲ d |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

در ارتباط با تأثیر نانواکسید آهن در افزایش میزان آهن در اندام‌های گیاه گزارش‌های مشابه زیادی وجود دارد از جمله فتحی و زاهدی (۱۳۹۳) نشان دادند با محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان آهن در اندام هوایی ذرت به‌طور معنی‌داری نسبت به عدم مصرف کود و حتی در مقایسه با کود آهن معمولی افزایش می‌یابد. کاربرد نانو کود آهن در گیاه اسفناج نیز پیامدهای مثبتی در افزایش تجمع آهن در برگ گیاه داشته است (وتنی و همکاران، ۲۰۱۲). در آزمایش دیگری محلول‌پاشی آهن و منگنز سبب افزایش غلظت آهن در اندام هوایی گندم شد (ال-فولی و همکاران، ۲۰۱۱). نـادی و همکـاران

(۲۰۱۳) گزارش کردند که بیشترین و کمترین غلظت آهن در گیاه لوبیا به‌ترتیب در محلول‌پاشی ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن و شاهد مشاهده شد. در آزمایش گلشاهی و همکاران (۱۳۹۶) نیز محلول‌پاشی منابع آهن به‌طور معنی‌داری میزان آهن اندام هوایی سورگوم را نسبت به شاهد افزایش داد.

قارچ‌های میکوریز از طریق ترشح انواعی از سیدروفورها و کلاته کردن آهن می‌تواند جذب و انتقال آهن را در گیاه افزایش دهد (کریس و همکاران، ۱۹۹۸). این ریز جانداران می‌توانند علاوه بر توسعه سیستم ریشه‌ای از طریق تجزیه سیلیکات‌ها و انحلال کانی‌ها باعث آزادسازی عناصر میکرو و افزایش جذب آنها توسط گیاه شوند (شادی و همکاران، ۱۹۸۴). کریس و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند که قارچ‌های میکوریزی *G. mosseae* جذب و انتقال آهن در گیاهان بادام زمینی و سورگوم را افزایش می‌دهند. در آزمایشی دیگر کاربرد میکوریز سبب افزایش معنی‌دار ۲۸/۳ درصدی میزان آهن در گیاه ذرت نسبت به شاهد شد (غلامی و همکاران، ۱۳۹۵). رامش و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که مایه‌زنی خاک با باکتری باعث افزایش غلظت آهن، مس و منگنز ، به‌واسطه کاهش pH خاک، افزایش اکسین و فعالیت‌های آنزیمی در اندام هوایی گندم و سویا می‌شود. محمودزاده و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریزا در نعناع فلفلی سبب افزایش میزان آهن در اندام‌های گیاه می‌شود. به‌طور کلی با توجه به نتایج آزمایش افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن از ۱/۵ به ۳ گرم در یک لیتر آب چنان که باید سبب افزایش میزان آهن در ریشه و اندام هوایی گیاه سیاهدانه نشد. بنابراین اینگونه به نظر می‌رسد که انتخاب ۱/۵ گرم نانو اکسید آهن جهت صرفه جویی در مصرف آهن و انتخاب قارچ میکوریزا *G. intraradices* با توجه به تأثیری که تلقیح با این قارچ در افزایش میزان آهن در ریشه و اندام هوایی گیاه داشت می‌تواند به‌عنوان تیماری مناسب جهت افزایش میزان آهن در اندام‌های هوایی و زمینی سیاهدانه انتخاب شوند.

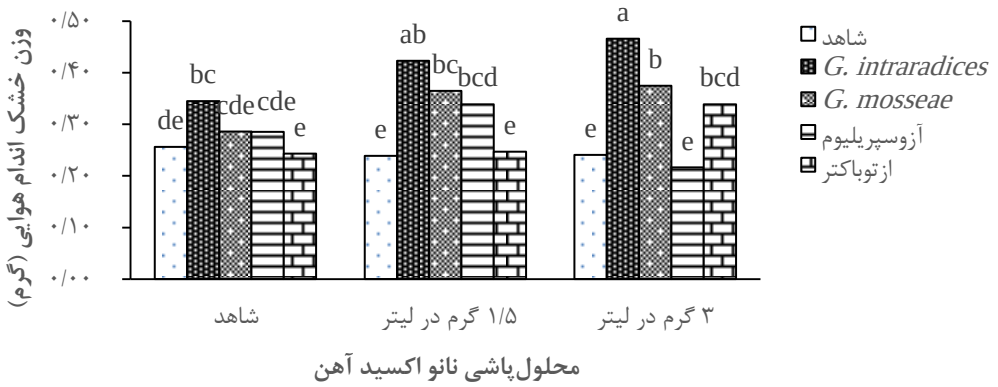
## ۴-۳ - برخی از صفات کمی

### ۴-۳-۱ - وزن خشک اندام هوایی و ریشه (آزمایش گلدانی)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد علاوه بر اثرات جداگانه تیمارهای مورد بررسی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال ۵ درصد) و کودهای زیستی (در سطح احتمال ۱ درصد)، اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار شد (پیوست ۵).

نتایج این آزمایش نشان داد وزن خشک ریشه تنها تحت تأثیر اثرات اصلی تیمارهای محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال ۵ درصد) و کودهای زیستی (در سطح احتمال ۱ درصد) قرار گرفت (پیوست ۵).

با توجه به شکل ۴-۱۴ بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی در طی محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن به‌همراه قارچ میکوریزا *G. intraradices* (با میانگین ۰/۴۶ گرم در بوته) حاصل شد که با تیمار محلول‌پاشی ۱/۵گرم نانو اکسید آهن به‌همراه قارچ میکوریزا *G. intraradices* (با میانگین ۰/۴۲ گرم در بوته) تفاوت معنی‌داری نداشت. محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان وزن خشک ریشه را نیز نسبت به شاهد افزایش داد. به‌طوری که بیشترین مقدار وزن خشک ریشه با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن با میانگین ۰/۰۵۳ گرم حاصل شد که لازم به ذکر است با محلول‌پاشی ۱/۵ گرم نانو اکسید آهن با میانگین ۰/۰۴۹ گرم در بوته تفاوت معنی‌داری نداشت. که به‌ترتیب توانستند وزن خشک را ۲۰/۴۵ و ۱۱/۳۶ درصد نسبت به شاهد با کمترین میزان وزن خشک (با میانگین ۰/۰۴۴ گرم در بوته) افزایش دهند (جدول ۴-۱۲).




شکل ۴-۱۴- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان وزن خشک اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

تلقیح با کودهای زیستی نیز میزان وزن ریشه سیاهدانه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد و بین کودهای زیستی مورد استفاده در این آزمایش نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان وزن خشک ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* (به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۰۶۳ و ۰/۰۵۵ گرم در بوته) اندازه‌گیری شد و بعد از این تلقیح با باکتری‌های محرک رشد آزوسپریلیوم (با میانگین ۰/۰۴۶ گرم در بوته) و ازتوباکتر با میانگین (۰/۰۴۴ گرم در بوته) دارای بیشترین مقدار وزن ریشه بودند و کمترین مقدار نیز در تیمار شاهد (با میانگین ۰/۰۳۵ گرم در بوته) اندازه‌گیری شد (جدول ۴-۱۲).

بنا بر نتایج حاصل از این آزمایش محلول‌پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش وزن اندام‌های گیاه شد. در واقع با محلول‌پاشی نانو آهن شرایط تغذیه‌ای گیاه بهبود می‌یابد و افزایش وزن اندام‌های گیاه می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی باشد که خود سبب تجمع ماده خشک در گیاه می‌گردد (کوچکی و بنائیان، ۱۳۴۱). مشابه نتایج این آزمایش در آزمایش پیوندی و همکاران (۱۳۹۰) نانو کود کلات آهن و کلات آهن بر پارامترهای رشد از جمله وزن تر ساقه، وزن تر برگ، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام هوایی ریحان اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت. همچنین، کاربرد نانو کود کلات آهن و سکوسترین آهن سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه، تعداد غلاف در بوته، غلاف و

دانه در بوته در مقایسه با تیمار شاهد گردید (جوکار و همکاران، ۲۰۱۵). در پژوهشی روی ذرت علوفه‌ای اعلام گردید که کودهای حاوی عناصر کم مصرف از طریق افزایش سرعت رشد محصول، سطح جذب، دوام برگ و فتوسنتز، وزن خشک گیاه را افزایش می‌دهند (ساجدی و اردکانی، ۱۳۸۷). در آزمایشی دیگر وزن خشک گیاه تحت تأثیر محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی روی و آهن قرار گرفت و نسبت به تیمار محلول‌پاشی با آب ۳۲ درصد افزایش نشان داد (اردشیری و جهان بین، ۱۳۹۷).

نتایج آزمایش نشان داد کودهای زیستی شامل*G. intraradices*، *G. mosseae*، باکتری آزوسپریلیوم و باکتری ازتوباکتر به‌ترتیب سبب افزایش ۸۰، ۵۷، ۳۱ و ۲۵ درصدی وزن خشک ریشه نسبت به شاهد شدند (شکل ۴-۱۲). در آزمایش رضوانی و همکاران (۱۳۸۸) با بررسی واکنش گیاه یونجه به سه گونه از قارچ میکوریزا شمال *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. etanicatum* دریافتند که میزان وزن خشک بوته و وزن خشک ریشه گیاه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت و در این بین قارچ میکوریزا گونه *G. mosseae* بیشترین تأثیر را در افزایش میزان وزن خشک اندام‌های گیاه داشت. آنها بیان کردند که اینگونه از قارچ در جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه فسفر به گیاه کمک بیشتری کرده و بدین ترتیب سبب فتوسنتز بیشتر و تجمع ماده خشک بیشتر در اندام هوایی شده و حتی در تخصیص میزان کربن به ریشه گیاه موثر تر بوده و بدین ترتیب وزن خشک ریشه را نیز افزایش می‌دهد. عظیمی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای بر روی گیاه آویشن باغی میکوریزایی شده نشان دادند که گونه‌های *G. mosseae* و *G. intraradices* وزن خشک اندام هوایی را به‌ترتیب به میزان ۴۶ و ۱۸ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. این محققان بیان کردند که تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و سیتوکنین در گیاه آویشن باغی تلقیح شده با میکوریزا موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه شده است.

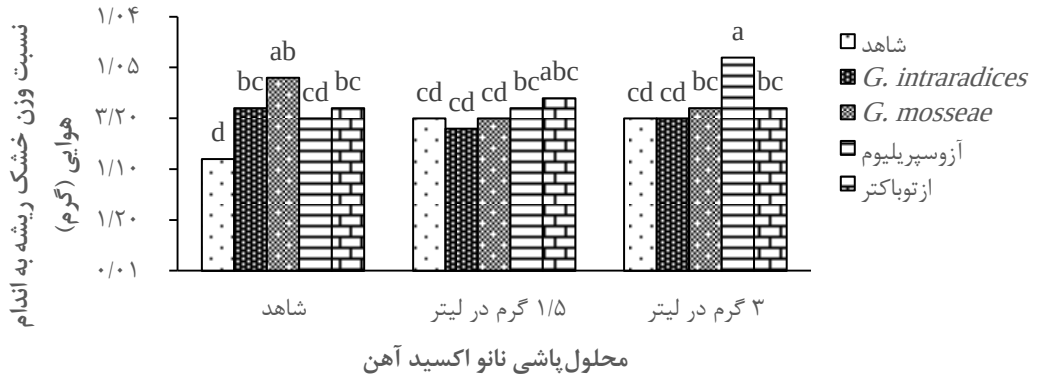
قارچ‌های میکوریزایی از طریق گسترش شبکه هیفی خارج ریشه‌ای موجب افزایش جذب و انتقال مواد غذایی به ریشه می‌شوند و سیستم ریشه‌ای گیاه در نتیجه میکوریزایی شدن تغییراتی حاصل

می‌کند به‌طوری که در ریشه گیاهان میکوریزایی طول ریشه بیشتر، انشعابات آن وسیعتر و به مراتب وزن ریشه بیشتر می‌شود و اینگونه می‌تواند جذب عناصر غذایی و تجمع ماده خشک را افزایش دهد که این خود می‌تواند تأثیر بسزایی در افزایش وزن ریشه و اندام هوایی گیاه داشته باشد (آزکن و همکاران، ۱۹۷۹). گزارشات متعددی نیز در رابطه با تأثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد در افزایش میزان وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان وجود دارد از جمله آزمایش بیاری و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی بر روی تحریک رشد و افزایش جذب عناصر غذایی ذرت (*Zea mays* .L) توسط کاربرد ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (سویه‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) در منطقه شاهرود، نشان دادند که تیمار با PGPR ها به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام هوایی را افزایش داد. اثر سویه‌های مختلف از باکتری‌های محرک رشد روی رشد و عملکرد ذرت حاکی از افزایش معنی‌دار در قدرت گیاهچه‌های ذرت، وزن خشک اندام هوایی و برگ و خوشه، مساحت سطح برگ بود (غلامی و همکاران، ۲۰۰۹). رجبزاده (۱۳۸۸) تأثیر آزوسپریلیوم جدا شده از ریزوسفر برنج را در نقاط مختلف استان گلستان روی عملکرد دو رقم برنج (ندا و هاشمی) در دو سطح کودی در شرایط گلخانه بررسی نمود. نتایج بیانگر افزایش معنی‌دار در سطح ۵ درصد در وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و تراکم ریشه در تیمارهای تلقیح شده نسبت به شاهد شد. باشان و دوبروفسکی (۱۹۹۶) در آزمایشات خود عنوان نمودند که تلقیح گیاه با آزوسپریلیوم علاوه بر تأثیر بر روی رشد ریشه‌ها، موجب افزایش رشد اندام‌های هوایی و ارتفاع گیاه نیز می‌شود. آنها به این نتیجه رسیدند که حتی در اثر تلقیح، نسبت اندام‌های هوایی به ریشه می‌تواند افزایش یابد، به‌طوری که عکس العمل رشد اندام‌های هوایی بیش از ریشه‌ها می‌باشد. تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم علاوه بر تأثیر بر روی پارامترهای مربوط به ریشه، بر روی بسیاری از پارامترهای رویشی و اندام‌های سبز گیاه نیز مؤثر است. این تغییرات مستقیماً به تأثیر مثبت آزوسپریلیوم در افزایش جذب یون‌هایی نظیر $Fe^{+3}$، $NO_3^-$، $NH_4^+$، $PO_4^{-3}$، $K^+$ و $Rb^+$ بستگی داشته و علت اصلی افزایش وزن خشک اندام‌های سبز (هوایی) می‌باشد (لین و همکاران، ۱۹۸۳).

از آنجایی افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن از ۱/۵ به ۳ گرم نانو اکسید آهن تفاوت معنی‌داری در میزان وزن خشک اندام‌های گیاه سیاهدانه ایجاد نکرد، جهت صرفه جویی در میزان مصرف کود به نظر می‌رسد می‌توان مصرف توأم غلظت کمتر کود نانو اکسید آهن به همراه کودهای زیستی مورد مطالعه در این آزمایش به‌ویژه قارچ *G. intrardices* را به‌عنوان تیماری جهت افزایش وزن خشک اندام‌های سیاهدانه معرفی کرد.

### ۴-۳-۲ - نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر این صفت تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت (پیوست ۵).




شکل ۴-۱۵- اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

همان‌طور که در شکل ۴-۱۵ نشان داده شده بیشترین میزان نیز از مصرف توأم محلول‌پاشی ۳ گرم درلیتر نانو اکسید آهن و تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم (۰/۲۱ گرم) حاصل شد. کمترین مقدار نیز در تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۱ گرم مشاهده شد.

### ۴-۳-۳ - طول ریشه و اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها تنها کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر طول اندام هوایی و ریشه سیاهدانه داشت (پیوست ۵).

نتایج نشان داد که تلقیح با کودهای زیستی به‌طور معنی‌داری طول ریشه و اندام هوایی سیاهدانه را نسبت به شاهد افزایش داد. بیشترین میزان طول ساقه در گیاهان تلقیح شده با باکتری آزوسپریلیوم با میانگین ۴۴/۹۴ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد که با گیاهان تلقیح شده با دو گونه قارچ میکوریزا با ارتفاع ۴۲/۸۳ سانتی‌متر و باکتری ازتوباکتر با ۴۲/۶۱ سانتی‌متر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴-۱۲).

بیشترین میزان طول ریشه نیز به ترتیب از تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم، ازتوباکتر و قارچ *G. intraradices* (به ترتیب با میانگین‌های ۱۴/۱۶، ۱۳/۰۵ و ۱۳/۱۱ سانتی‌متر) حاصل شد. سپس قارچ *G. mosseae* (با میانگین ۱۲/۳۳ سانتی‌متر) سبب افزایش معنی‌دار طول ریشه نسبت به شاهد (با میانگین ۶/۴۴ سانتی‌متر) شد (جدول ۴-۱۲).

جدول ۴-۱۲-مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش گلدانی)

| تیمار | وزن خشک ریشه (گرم) | طول ریشه (سانتی‌متر) | طول اندام هوایی (سانتی متر) | نسبت طول ریشه به اندام هوایی |
|---|---|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | | | |
| شاهد | ۰/۰۴۴ b | ۱۱/۶۰a | ۴۱/۲۰ a | ۰/۲۷ a |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۰/۰۴۹ ab | ۱۱/۹۳ a | ۴۱/۷۰ a | ۰/۲۸ a |
| ۳گرم در لیتر | ۰/۰۵۳ a | ۱۱/۹۳ a | ۴۲/۰۰a | ۰/۲۸ a |
| کود زیستی | | | | |
| شاهد | ۰/۰۳۵ c | ۶/۴۴ c | ۳۴/۹۵ b | ۰/۱۸ c |
| *G. intraradices* | ۰/۰۶۳ a | ۱۳/۱۱ ab | ۴۲/۸۳ a | ۰/۳۰ ab |
| *G. mosseae* | ۰/۰۵۵ a | ۱۲/۳۳ b | ۴۲/۸۳ a | ۰/۲۸ b |
| آزوسپریلیوم | ۰/۰۴۶ b | ۱۴/۱۶ a | ۴۴/۹۴ a | ۰/۳۱ a |
| ازتوباکتر | ۰/۰۴۴ b | ۱۳/۰۵ ab | ۴۲/۶۱ a | ۰/۳۰ ab |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

ریشه‌های گسترده از طریق افزایش جذب رطوبت و متعاقب آن افزایش تعرق، در افزایش عملکرد دانه و ثبات آن مؤثر است. در گزار ش‌های سراج و همکاران (۲۰۰۴) نشان داده شد که مجموع طول ریشه از مهمترین خصوصیت بوده که گیاه را قادر می‌سازد که آب بیشتری را از لایه

پایین‌تر خاک جـذب و در اختیار اندام‌های هوایی گیاه قرار دهد. طول ریشه می‌تواند به‌عنوان مهمترین پارامتر در روند رشد گیاهی استفاده گردد، زیرا پژوهشگران اعتقاد دارند کـه طـول ریشـه در واحـد حجم خاک بهترین خصوصیت جهت ارزیابی آب خاک و جذب عناصر توسط گیاه می باشد (عشقی‌زاده و همکاران، ۲۰۱۲). روسو و همکاران (۲۰۰۵) اعلام کردند تلقیح بذور ذرت و گندم با باکتری‌های افزاینده رشد و قارچ میکوریزا باعث افزایش عمق نفوذ و حجم ریشه می‌شود، به نظر می رسد حضور قارچ میکـوریزا باعـث تغیراتـی در ریخـت شناسی ریشه شده به نحوی که انتشار میسیلیوم‌های قـارچ میکوریزا مرتبط با بافت‌های درونی ریشه باعـث افـزایش طول ریشه شده است .در این زمینه نیز دیـویس و همکـاران (۲۰۰۲) نشـان دادند طول ریشه در گیاه آلوده به قارچ میکوریزا بیشـتر از طول ریشه گیاه بدون میکوریزا بود. علاوه بر طول ریشه‌های (بذری، گره ای و زیر گره‌ای) تعداد این ریشه‌ها نیـز در مقابله با تنش‌های محیطی و جذب آب و عناصر غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، افزایش میانگین طـول ریشه‌های (بذری، گـره‌ای و زیـر گـره‌ای) در تیمـار هـای باکتری‌های حل کننده فسفات و قارچ میکوریزا می‌توانـد اثر مثبتی را در جذب آب و عناصر غذایی و ایجاد شرایطی مناسب برای رشد سریع اولیه و همچنین تحکیم گیاه داشته باشد، زیرا طول ریشه‌های بذری از شاخص‌های مهـم مورفولوژیـک و فیزیولوژیـک محسوب می‌شوند و معمولاً تیمارهایی که بتوانند طـول ریشـه بـذری بیشـتری را تولیـد نماینـد، سریع‌تر از تیمارهایی که دارای طول ریشه بذری کوتاه‌تری هستند، جوانه می‌زنند (فیضی اصل و همکاران، ۱۳۹۳). مانسک و همکـاران (۱۹۹۵) بـذرهای مختلـف گندم را با قارچ میکوریزا تلقیح نمودند، نتایج نشان داد که قارچ میکوریزا با تولید انواع هورمون‌هـای گیـاهی، رشـد طولی و تراکم رشد ریشه‌های گندم را افزایش داده و میزان آلودگی ریشه‌های گندم را به قارچ میکوریزا در همه رقم‌ها به‌طور قابل مشاهده‌ای افزایش داد. نشان داده شده اسـت که قـارچ میکـوریزا از طریـق تغییـر در سـاختار ریشـه و افزایش طول ریشه موجـب بهبـود جـذب آب مـی‌گـردد (مانوهران و همکـاران، ۲۰۰۸). مزایـای تلقـیح گیـاه بـا باکتری‌های افزاینده رشـد شـامل افـزایش شـاخص‌هـای متعددی مانند رشد ریشه، میزان تولید در

واحد سطح، وزن اندام هـوایی و ریشـه، سـطح بـرگ، محتـوای کلروفیـل، همچنین کنترل زیسـتی عوامـل بیمـاری‌زا، مقاومـت بـه خشکی و افزایش فعالیت میکروبـی مـی‌باشـد (لوسـی و همکاران، ۲۰۰۴). تأثیر باکتری‌های محرک رشد می‌تواند در نتیجه تولید هورمون‌هایی همچون اکسین و سیتوکنین به ریزوسفر باشد، زیرا نقش اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها در پیدایش ریشه، افزایش تقسیم یاخته‌ای و گسترش ریشه به‌خوبی شناخته شده است (گرای و اسمیت، ۲۰۰۵).

در ارتباط با تأثیر بـاکتری‌هـای محـرک رشـد و قارچ‌های میکوریزا بـر صـفات رویشـی گیاهـان، سازوکارهای مختلفی بیان شده است. با توجه به این واقعیت که باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا از یک طرف از طریق تأثیر بر جذب عناصر غذایی پرمصرف مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم (جامس و همکاران، ۲۰۰۸؛ ساندارا و همکاران، ۲۰۰۱) و از طرف دیگـر از طریـق تولید هورمون‌های محرک رشد گیـاه ماننـد جیبـرلین (تـأثیر در رشد طولی سلول‌هـا، بـه‌ویـژه میـانگره‌هـای سـاقه)، اکسـین و سـیتوکینین (تـأثیر در تقسـیم سـلولی) سـبب افـزایش صـفات رویشی گیاه می‌گردند (گوتریزمانرو و همکاران، ۲۰۰۱). اثر افزایشی تیمارهای بـه کـار بـرده شده بر ارتفاع بوته را می‌تـوان بـه تولیـد اکسـین و جیبـرلین و تأمین بهینه عناصر غذایی تعمیم داد. گـزارش‌هـای متعـددی بـه تأثیر مثبت باکتری‌های محرک رشـد و قـارچ‌هـای میکوریزا بر ارتفاع بوته گیاهان مختلف اشاره کرده‌اند. به‌طوری کـه دهقانی مشکانی و همکاران (۱۳۸۹) طـی تحقیقی اعلام داشـتند کـه تیمارهـای کـود زیسـتی (ازتوبـاکتر، آزوسپیریلوم و باسیلوس) نسبت به تیمار کود شـیمیایی کامـل و شاهد به‌طور معنـی‌داری سـبب افـزایش ارتفـاع بوتـه بابونـه شده‌اند. ال- یزید و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر کـود زیسـتی از نوع باسیلوس بر گیاه کدو گزارش دادند که صـفات رویشـی شامل ارتفاع ساقه، قطر ساقه، تعداد برگ و سطح برگ و جذب عناصر مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم و بور افزایش یافت.

### ۴-۳-۴ - نسبت طول ریشه به اندام هوایی (آزمایش گلدانی)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (پیوست ۵) نشان داد، در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تأثیر کود های زیستی بر این صفت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد.

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان این نسبت در گیاهان تلقیح شده با باکتری آزوسپریلیوم با میانگین ۰/۳۱ به‌دست آمد، که ۷۲/۲۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت.

با توجه به اینکه تلقیح با این باکتری سبب افزایش معنی‌دار طول ریشه و اندام هوایی شده بود، بنابراین بیشتر بودن این نسبت در این تیمار دور از انتظار نخواهد بود. تلقیح با باکتری ازتوباکتر و قارچ *G. intraradices* با میانگین ۰/۳۰ و بعد از اینها قارچ *G. mosseae* با میانگین ۰/۲۸ سبب به دست آمدن بیشترین میزان نسبت طول ریشه به اندام هوایی گیاه سیاهدانه در این آزمایش شدند. کمترین مقدار این نسبت نیز در گیاهان شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) با میانگین ۰/۱۸ به دست آمد (جدول ۴-۱۲).

### ۴-۳-۵ - ارتفاع (آزمایش مزرعه‌ای)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تأثیر کودهای زیستی بر میزان ارتفاع گیاهان کشت شده در مزرعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (پیوست ۶).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان ارتفاع گیاهان تلقیح شده با قارچ *G.mosseae* (با میانگین ۴۴/۴۴ سانتی‌متر) مشاهده شد. سپس گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (با میانگین ۴۴/۱۰ سانتی‌متر) در رتبه بعدی قرار گرفتند. کمترین میزان ارتفاع نیز در گیاهان شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) با میانگین ۳۴/۹۲ سانتی‌متر مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد نداشتند (جدول ۴-۱۳).

مشابه نتایج آزمایش حاضر در آزمایش بستامی (۱۳۹۲) ارتفاع بوته گشنیز در تلقیح با میکوریزا در حدود ۳۱ درصد نسبت به شاهد بیشتر بود. نتایج حاصل از تحقیق سایلو و باگیاراج (۲۰۰۵)، در بررسی اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا آرباسکولار، بر رشد گیاه دارویی *Coleus forskohlii* حاکی

از آن بود که ارتفاع بوته گیاهان تحت تأثیر تیمار قارچ میکوریزا نسبت به شاهد افزایش یافت. گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه نعناع با گونه‌ای قارچ میکوریزا *Glomus fasiculatum* به‌طور قابل ملاحظه‌ای ارتفاع گیاه را در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، افزایش داد. افزایش ارتفاع گیاه در اثر تلقیح میکوریزا در تحقیقات اکانبی و اواده (۲۰۰۸)، آهیبور و هیراتا (۱۹۹۴) نیز گزارش شد. در پژوهشی دو ساله که توسط سوبرامانیان و همکاران (۲۰۰۶) برروی گوجه‌فرنگی انجام گرفت، مشاهده شد که همزیستی ریشه گوجه فرنگی، با یک گونه از قارچ میکوریزا، سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته (۷۲/۱ سانتی‌متر) در مقایسه با تیمار شاهد (۶۴/۹۵ سانتی‌متر) شد. آنها علت این امر را به بهبود همزیستی میکوریزایی و تأثیر آن در جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، مرتبط دانستند.

در همین خصوص شاکلی و همکاران (۲۰۰۴) نیز در تحقیق خود بر روی نوعی شبدر بومی آمریکا شاهد بهبود محسوس ارتفاع بوته گیاه در تلقیح با گونه‌ای قارچ میکوریزا *G. intraradices*، (۵۲/۲ سانتی‌متر)، در مقایسه با عدم تلقیح (۳۷/۸ سانتی‌متر) بودند. خرم‌دل و همکاران (۱۳۸۷) نیز گزارش کردند تلقیح قارچ میکوریزا برروی گیاه دارویی سیاهدانه منجر به افزایش ارتفاع گیاه نسبت به شاهد شده است. با این وجود علی‌آبادی فراهانی و همکاران (۱۳۸۷) در پژوهش خود گزارش کردند که تلقیح میکوریزا اثری بر ارتفاع بوته گشنیز ندارد. با توجه به اینکه ارتفاع گیاه تا حدوی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (سامرا و همکاران.، ۱۹۹۷). احتمالاً قارچ میکوریزا از طریق افزایش سطح تماس ریشه‌ای با محیط اطراف آن باعث بالا رفتن جذب آب و عناصر غذایی توسط ریشه شده و منجر به افزایش رشد رویشی گیاه می‌شود. بنابراین این افزایش ارتفاع در گیاه سیاهدانه تلقیح شده با قارچ میکوریزا دور از انتظار نبوده و به نظر می‌رشد می‌تواند تأثیر مثبتی در افزایش ارتفاع این گیاه حتی بیشتر از باکتری‌های محرک رشد داشته باشد.

### ۴-۳-۶ - تعداد شاخه جانبی (آزمایش مزرعه‌ای)

همان‌گونه که در جدول درج شده در پیوست ۶ ملاحظه می‌شود تنها تأثیر کودهای زیستی بر تعداد شاخه جانبی سیاهدانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد.

بیشترین تعداد شاخه جانبی در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا *G. intraradices* با ۹/۶۲ شاخه جانبی مشاهده شد. کمترین تعداد شاخه جانبی نیز برای تیمار شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) با میانگین ۵/۷۴ شاخه جانبی ثبت شد. گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* و باکتری‌های محرک رشد نیز سبب افزایش معنی‌دار تعداد شاخه جانبی نسبت به شاهد شدند هرچند این افزایش به اندازه تأثیر قارچ *G. intraradices* نبود (جدول ۴-۱۳). به‌نظر می‌رسد که همزیستی سیاهدانه با این میکروارگانیسم‌ها به دلیل تولید هورمون‌های محرک رشد و مواد بیولوژیکی فعال باعث افزایش رشد رویشی و به تبع آن تعداد شاخه جانبی در بوته شده‌است (خرم دل و همکاران، ۱۳۸۹).

شالان (۲۰۰۵) نیز با بررسی اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر سیاهدانه اظهار داشت که تلقیح با آزوسپیریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس باعث افزایش تعداد شاخه جانبی می‌شود. محمود زاده و همکاران (۱۳۹۴) با بررسی باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا بر خصوصیات فیزیولوژیک نعناع فلفلی نشان دادند که کاربرد این کودها سبب افزایش معنی‌دار تعداد شاخه جانبی نسبت به شاهد شد. آنها بیان کردند به دلیل جذب و انتقال بهتر عناصر معدنی (به‌ویژه عناصری مانند فسفر، پتاسیم، نیتروژن، منیزیم، آهن، روی و منگنز) و نقش این عناصر در رشد و توسعه گیاه، پارامترهایی نظیر تعداد شاخه‌های جانبی و طول شاخه‌های جانبی افزوده می‌گردند. نتایجی مشابه در مورد اثر مثبت تیمارهای باکتریایی و قارچی بر تعداد شاخه‌های جانبی گیاه کلزا توسط یاسری و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش گردیده است. در آزمایش کوچکی و همکاران (۱۳۹۴) نیز تلقیح با قارچ میکوریزا تعداد شاخه جانبی را در زنیان و رازیانه به‌ترتیب ۳۰ و ۲۲ درصد در مقایسه با شاهد بهبود بخشید.

## ۴-۴ - عملکرد و اجزای عملکرد دانه (آزمایش مزرعه‌ای)

### ۴-۴-۱ - تعداد کپسول در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (پیوست ۶) نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تأثیر

کودهای زیستی بر تعداد کپسول در بوته تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد داشت.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بین کودهای زیستی قارچ *G. intraradices* بیشترین تعداد کپسول در بوته در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (۳۶/۶۲ کپسول در بوته) مشاده شد. قارچ *G. mosseae* (۳۳/۲۰ کپسول در بوته) و باکتری های محرک رشد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم (به ترتیب ۲۳/۴۴ و ۲۲/۹۷ کپسول در بوته) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند و کمترین مقدار نیز در تیمار شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) (۱۷/۵۱ کپسول در بوته) حاصل شد (جدول ۴-۱۳).

تعداد کپسول در گیاه یکی از اجزای مهم عملکرد می‌باشد، زیرا کپسول از یک طرف در برگیرنده تعـداد دانـه بوده و از طرف دیگر تامین کننده مواد فتوسنتزی مورد نیاز برای دانه ها می‌باشد. در این آزمایش کودهای زیستی قارچ‌های میکوریزا (به‌ویژه *G. intraradices*) توانستند این جز از عملکرد دانه را به‌طور بسزایی افزایش دهند. در آزمایش خرم دل و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی اثر جداگانه و تلفیقی قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در سیاهدانه بیشترین تعداد کپسول در سیاهدانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا مشاهده شد. بستامی (۱۳۹۲) نیز قارچ‌های میکوریزا را به عنوان موثرترین کود زیستی در افزایش تعداد چتر در گیاه گشنیز معرفی کردند. در آزمایش آنها این قارچ نسبت به کود دامی تأثیر چشم‌گیر تری در افزایش تعداد چتر و گل گیاه گشنیز داشت. در آزمایش انصاری و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی دو گونه قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* بر گیاه برزک، تعداد کپسول در بوته به‌طور معنی‌داری در گیاهان تلقیح شده با هر دو گونه از قارچ‌های میکوریزا افزایش یافت.

در آزمایش قلی‌نژاد و درویش‌زاده (۱۳۹۴) با بررسی دو گونه قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* بر اجزای عملکرد گیاه کنجد، بیشترین تعداد کپسول در گیاه کنجد در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکریزا مشاهده شد. در بین دو گونه قارچ مورد بررسی، قارچ *G. mosseae* توانست در افزایش تعداد کپسول در بوته گیاه کنجد تأثیر بیشتری داشته باشد. آنها فراهمی بیشتر عناصر غذایی توسط قارچ را دلیل این افزایش گزارش کردند. از آنجایی که عناصر غذایی همچون نیتروزن، فسفر و پتاسیم

به همراه عناصر کم‌مصرف در فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان نقش مهمی ایفا می کنند. دسترسی بهتر و بیشتر گیاهان به این عناصر، سبب بهبود رشد، افزایش فتوسنتز و تولیدات مواد فتوسنتزی گشته و میتواند از این طریق موجب بهبود اجزای عملکرد گردد (لیتی و همکاران، ۲۰۰۶). رودرش و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند میکوریزا با گسترش شبکه هیف‌های خود و نفوذ در منافذ زیر خاک موجب جذب مقدار زیادی آب و عناصر غذایی می‌شود. از جمله جذب فسفر راحت صورت می‌گیرد، فسفر موجب بهبود گره‌بندی و افزایش کارایی تثبیت نیتروژن در گیاه می‌شود. از طرف دیگر، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه نیز با افزایش دسترسی گیاه به عناصر مغذی مهمی چون نیتروزن و فسفر و افزایش رشد ریشه با تأثیر روی فرآیندهای فتوسنتزی منجر به افزایش پارامترهای عملکردی می‌شوند.

**۴-۴-۲ - تعداد دانه در کپسول**

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها تنها کودهای زیستی بر تعداد دانه در کپسول گیاه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت(پیوست ۶). با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین تعداد دانه در کپسول در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* (به ترتیب بامیانگین ۷۱/۷۴ و ۷۰/۶۰ دانه در کپسول) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. کمترین مقدار نیز در گیاهان شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی ) با میانگین تعداد ۵۳/۳۹ دانه در کپسول مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد نداشتند (جدول ۴-۱۳).

در آزمایش خرم دل و همکاران (۱۳۸۹) قارچ‌های میکوریزا نسبت به باکتری‌های محرک رشد و شاهد در افزایش تعداد دانه در کپسول گیاه سیاهدانه تأثیر بسزایی داشتند. آنها این افزایش را به دلیل افزایش سطح فتوسنتزی گیاه، تغییر روابط هورمونی گیاه بیان کردند. در آزمایش علیزاده و همکاران (۱۳۹۸) کاربرد تلفیقی باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا تعداد دانه در غلاف گیاه باقلا را به میزان ۱۶/۲۳ درصد افزایش داد. در آزمایش قلی‌نژاد و درویش‌زاده (۱۳۹۴) تلقیح گیاه

کنجد با قارچ میکوریزا، تعداد دانه در کپسول را بـه میـزان ۴ درصـد افـزایش داد. راعـی و همکـاران (۱۳۹۴) در گیاه گلرنگ گزارش کردند که کاربرد میکوریزا باعث افزایش تعداد دانه در طبق می‌شـود. در آزمایش انصاری و همکاران (۱۳۹۳) قارچ‌های میکوریزا سبب افزایش تعداد دانـه در کپسـول گیـاه بزرک شدند و قارچ *G. intraradices* در افزایش تعداد دانه در کپسول گیاه سهم بیشتری را دارا بود. در واقع افزایش قابلیت دسترسی گیاه به عناصر غذایی می‌تواند باعث افزایش رشد سبزینه، تعداد گل، تعداد کپسول و در نهایت افزایش تعداد دانه در کپسول شود. علت این برتری به فرایندهای متابولیکی باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا در بهبود خصوصـیات فیزیکـی، شـیمیایی و بیولـوژیکی خاک، فراهمی عناصر غذایی، تولید هورمون‌های محرک و تنظیم کننده رشـد و نهایتـا بهبـود اجـزای عملکرد از جمله تعداد دانه در کپسول مربوط مـی‌باشـد (جهـان و نصـیری محلاتـی، ۱۳۹۱). امـا در آزمایش حاضر همان گونه که بیان شد قارچ‌های میکوریزا توانستند تعداد دانـه را در کپسـول بـه‌طـور معنی‌داری افزایش دهند و باکتری‌های محرک رشد تأثیری در افـزایش ایـن جـز از عملکـرد در گیـاه سیاهدانه ایجاد نکرند.

اگر چه میکوریزا در افزایش فتوسنتز گیاه میزبان به‌طور مستقیم نقش موثری ندارد، ولـی از طریق بهبود روابط آبی در سیستم متـشکل از آب - خـاک- گیـاه و همچنین تغییر روابـط هورمـونی گیـاه، سـطح فتوسـنتز گیـاه میزبـان را نسبت به گیاه شاهد افزایش مـی‌دهـد. تعـداد دانـه در کپسـول، در حقیقت ظرفیت مخزن گیاه را تعیین می‌کند و هر چه تعداد دانه بیـــشتر باشـــد، گیـاه دارای مخـزن بزرگتری برای دریافت مـواد فتوسـنتزی بـوده و در نهایت افزایش این صفت منجر به افزایش عملکرد دانـه خواهـد شد (وو و زایا، ۲۰۰۶).

### ۴-۴-۳ - وزن هزار دانه

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها تنها تأثیر کودهای زیستی در سطح احتمال ۱ درصـد بـر میـزان وزن هزار دانه گیاه سیاهدانه معنی‌دار شد (پیوست ۶). بدین ترتیب که بیشـترین میـانگین وزن هـزار دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا (۲/۴۰ گـرم) حاصـل شـد و کمتـرین مقـدار نیـز در

گیاهان شاهد (عدم تلقیح با کودهای زیستی) (۱/۷۸ گرم) مشاهده شد. باکتری‌های محرک رشد نیز توانستند میزان وزن هزار دانه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دهند اما تأثیر کمتری نسبت به قارچ‌های میکوریزا داشتند (جدول ۴-۱۳). در این آزمایش قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد میزان وزن هزار دانه را به‌ترتیب ۳۴/۸۳ و ۱۷/۹۷ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند.

در آزمایش علیزاده و همکاران (۱۳۹۸) تیمار کودهای زیستی (قارچ‌های میکوریزا) وزن هزار دانه بزرک را ۲۱/۵۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. ناصری و میرزایی (۲۰۱۰) نیز اثر مثبت باکتری های محرک رشد را در افزایش وزن هزار دانه گلرنگ و گندم تأیید کرده است. خرم دل و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر گیاه سیاهدانه اظهار داشتند که بیشترین وزن هزار دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا و باکتری آزوسپیریلوم به‌دست آمد. وزن هزار دانه اگرچه از خصوصیت‌های ژنوتیپ می‌باشد، اما تحت تأثیر شرایط دوره رسیدگی، رشد و طول دوره پر شدن دانه قرار می‌گیرد؛ خرم دل و همکاران (۱۳۸۹) اظهار داشتند که تیمار کودهای زیستی سبب افزایش مدت و سرعت فتوسنتز می‌شود که این امر در نهایت افزایش وزن دانه‌ها را به‌دنبال دارد. بستامی (۱۳۹۲) افزایش ۱۷/۸ درصدی وزن هزار دانه گیاه گشنیز تلقیح شده با قارچ میکوریزا را نسبت به گیاه غیر میکوریزایی گزارش کرد. این محقق اظهار داشت تلقیح میکوریزایی موجب شده که در مرحله پر شدن دانه‌ها، شیره پرورده کافی به دانه‌ها منتقل شده و سبب بهبود وزن هزار دانه گشنیز شود.

جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش مزرعه‌ای)

| | ارتفاع (سانتی‌متر) | تعداد شاخه در بوته | تعداد کپسول در بوته | تعداد دانه در کپسول | وزن هزار دانه (گرم) | عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) | عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | | | | | | |
| شاهد | ۳۸/۲۱ a | ۷/۸۴ a | ۲۶/۸۱ a | ۵۹/۱۴ a | ۲/۱۳ a | ۴۴۸ a | ۱۲۹۶ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۳۷/۸۴ a | ۷/۸۸ a | ۲۷/۰۵ a | ۶۰/۰۲ a | ۲/۱۴ a | ۴۵۱ a | ۱۳۲۶ a |
| ۳ گرم در لیتر | ۳۸/۲۱ a | ۷/۷۵ a | ۲۶/۳۸ a | ۵۹/۸۷ a | ۲/۲۰ a | ۴۵۲a | ۱۳۳۲ a |
| کود زیستی | | | | | | | |
| شاهد | ۳۴/۹۲ c | ۵/۷۴ c | ۱۷/۵۱ d | ۵۳/۳۹ b | ۱/۷۸ c | ۴۰۲d | ۱۱۷۶ c |
| *G. intraradices* | ۴۱/۱۰ b | ۹/۶۲ a | ۳۶/۶۲ a | ۷۱/۷۴ a | ۲/۴۰ a | ۵۰۴ a | ۱۴۰۰ a |
| *G. mosseae* | ۴۴/۴۴ a | ۸/۳۶ b | ۳۳/۲۰ b | ۷۰/۶۰ a | ۲/۴۰ a | ۴۷۳ b | ۱۳۸۵ a |
| آزوسپریلیوم | ۳۴/۹۲ c | ۷/۶۲ b | ۲۲/۹۷ c | ۵۳/۴۲ b | ۲/۱۰ b | ۴۲۵ c | ۱۳۱۸ b |
| ازتوباکتر | ۳۵/۰۷ c | ۷/۷۷ b | ۲۳/۴۴ c | ۴۹/۲۱ b | ۲/۰۹ b | ۴۳۱ c | ۱۳۱۷ b |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

### ۴-۴-۴ - عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنها کاربرد کودهای زیستی در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان عملکرد دانه در گیاه سیاهدانه معنی‌دار بود. نتایج آزمایش نشان داد که تیمار محلول‌پاشی و اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عملکرد دانه سیاهدانه معنی‌دار نبود (پیوست ۶).

در بین تیمارهای مورد بررسی بیشترین میزان عملکرد دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا *G. intraradices* با میانگین ۵۰۴ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد. گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* (با میانگین ۴۷۳ کیلوگرم در هکتار) و باکتری‌های محرک رشد ازتوباکتر (با میانگین ۴۳۱ کیلوگرم در هکتار) و باکتری آزوسپریلیوم (با میانگین ۶۸۴۲۵ کیلوگرم در هکتار) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین مقدار عملکرد دانه نیز در تیمار شاهد (۴۰۲ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد (جدول ۴-۱۳).

عملکرد دانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* تقریبا تا دو برابر نسبت به عملکرد دانه در گیاهان تلقیح نشده افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد همزیستی با میکوریزا به دلیل افزایش سرعت و مدت فتوسنتز (کوپتا و همکاران، ۲۰۰۶)، باعث افزایش راندمان انتقال مواد فتوسنتزی به مخازن زایشی (دانه) گیاه همزیست شده که این امر در نهایت منجر به افزایش عملکرد دانه در گیاه می‌شود. کاپور و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نمودند تلقیح بذر رازیانه با قارچ میکوریزا منجر به بهبود اجزای عملکرد و به تبع آن افزایش معنی‌دار عملکرد دانه می‌شود. در آزمایش کوچکی و همکاران (۱۳۹۴) تلقیح با میکوریزا تأثیر معنی‌داری بر میزان عملکرد دانه دو گونه دارویی رازیانه و زنیان داشت. به طوری که همزیستی با قارچ میکوریزا باعث بهبود عملکرد دانه رازیانه و زنیان به‌ترتیب ۴۶ و ۹۷ درصد نسبت به شاهد شد. پژوهشگران دیگری در گیاه دارویی ماریتیغال گزارش کردند که بیشترین عملکرد دانه از تیمار قارچ میکوریزا به‌دست آمد که با تیمار شاهد ۱۱۷ درصد اختلاف داشت (یادگاری و همکاران، ۱۳۹۵). در آزمایشی دیگری که به‌منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر روی گیاه

دارویی گشنیز انجام شده بود، بیشترین عملکرد دانه با میانگین ۱۵۱۷/۸ کیلوگرم در هکتار از تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم به‌دست آمد (درزی و همکاران، ۱۳۹۱). در آزمایشی با بررسی باکتری‌های محرک رشد در گیاه سیاهدانه مشخص شد که بیشترین میزان عملکرد دانه از تلقیح توأم بذر با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به‌دست آمد. پاسخ سیاهدانه به تلقیح به این کودها به‌دلیل فراهمی بیشتر عناصر غذایی برای بوته‌ها بوده که در نتیجه باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی برای دانه‌ها شده است (قانع‌پسند و حاج سید هادی، ۱۳۹۵).

در آزمایشی با بررسی تلقیح میکوریزایی با گیاه ماریتیغال مشخص شد که بیشترین عملکرد دانه (۱۱۸/۲۹ گرم در مترمربع) مربوط به تیمار کاربرد قارچ میکوریزا (*G. mosseae*) بود. پژوهشگران بیان کردند میکروارگانیسم‌های موجود در کودهای زیستی می‌توانند با افزایش طول دوره پرشدن دانه و مقدار مواد فتوسنتزی ذخیره شده، افزایش عملکرد دانه را توجیه کنند. بنابراین، افزایش میزان مواد غذایی قابل دسترس به‌وسیله کاربرد کودهای زیستی می‌تواند تا حد زیادی به افزایش عملکرد دانه منجر شود (حمزه‌ئی و سلیمی، ۱۳۹۳). در تحقیق دیگری گزارش گردید که بیشترین عملکرد دانه زنیان از تیمار کاربرد تلفیقی قارچ میکوریزا *Azotobacter+ Pseudomonas+* به‌دست آمد. افزایش عملکرد زنیان در تیمار تلفیقی به‌دلیل تأثیر مثبت کودهای زیستی بر روابط آبی گیاه میزبان، چرخه مواد غذایی و در دسترس قرار دادن و افزایش جذب عناصر غذایی باشد (رضائی چیانه و همکاران، ۱۳۹۴). کودهای زیستی علاوه بر تثبیت نیتروژن و آزاد کردن پتاسیم و انحلال فسفر با تولید مواد محرک رشد سبب بهبود رشد ریشه و نهایتاً افزایش سرعت جذب آب و عناصر غذایی، با تحت تأثیر قرار دادن اجزای عملکرد موجب افزایش عملکرد دانه می‌گردند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

### ۴-۴-۵ - عملکرد بیولوژیکی (زیستی)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد عملکرد بیولوژیکی تحت تأثیر جداگانه هر دو تیمار مورد بررسی، محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال ۵ درصد) و تلقیح با کودهای زیستی (در

سطح احتمال ۱ درصد) قرار گرفت. اما اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی از تأثیر معنی‌داری بـر میـزان این صفت بر خوردار نبود (پیوست ۶).

محلول‌پاشی نانواکسیدآهن تأثیر مثبت و معنی‌داری در افزایش عملکرد بیولوژیک داشت. اما تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت مورد استفاده مشاهده نشد. به ایـن ترتیـب کـه بیشـترین میـزان عملکـرد زیستی با محلول‌پاشی ۳ گرم نانو اکسید آهن در هزار لیتر (۱۳۳۳ کیلوگرم در هکتـار) و غلظـت ۱/۵ گرم در لیتر (با میانگین ۱۳۲۶ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد و توانستند به‌ترتیـب میـزان عملکـرد بیولوژیک را ۱۲ و ۱۰ درصد نسبت به شرایط شاهد با کمترین میزان عملکرد بیولوژیک (بـا میـانگین ۱۲۹۶ کیلوگرم در هکتار) افزایش دهند (جدول ۴-۱۳).

هم راستا با نتایج پژوهش حاضر گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش وزن خشک گیاه می‌شـود. بـه‌عنـوان مثـال در آزمـایش بیـاتی و همکـاران (۱۳۹۳) نیز محلول‌پاشی نانو اکسید آهن سبب افزایش عملکرد زیستی در گیاه کلزا شـد. آنهـا دلیـل افزایش عملکرد بیولوژیک را گسترش سطح بـرگ و افـزایش پتانسـیل فتوسـنتزی گیاه،کـه موجـب بزرگتر شدن ساختارهای رویشی، افزایش وزن و قطر ساقه‌ها، تولیـد تعـداد بیشـتری خـورجین، و در نهایـت افزایش وزن خشـک انـدام‌هـای هـوایی گیـاه و همچنین عملکرد دانه بیان کردند. ابراهیمیـان و بـایبوردی (۲۰۱۱) گزارش نمودند که کاربرد آهن باعث بهبود عملکـرد زیسـتی گیـاه آفتـابگردان شد. این پژوهشگران اظهار داشتند که با کاربرد آهن وزن خشک برگ و ساقه افزایش می‌یابد که ایـن افزایش در رشد اندام‌های رویشی با بهبود در عملکرد دانه باعث بهبود عملکـرد بیولوژیـک آفتـابگردان در شرایط کاربرد آهن در مقایسه با شاهد (عدم کاربرد) می‌شود. سپهری و وزیری امجد (۱۳۹۴) نیـز گزارش کردند محلول‌پاشی نانو آهن میزان عملکرد بیولوژیـک گیـاه کاسـنی را افـزایش مـی‌دهـد. در آزمایش محمد خانی و روزبهانی نیز میزان عملکرد زیسـتی ذرت بـا محلـول‌پاشـی نـانو اکسـید آهـن افزایش یافت. نصیری دهسرخی و همکاران (۱۳۹۷) با بررسی محلـول‌پاشـی آهـن بـه دو فـرم نـانو و معمولی نشان دادند که کود آهن سبب افزایش عملکرد زیستی گیاه زیره سبز شد و در این بین تـأثیر

کود نانو نسبت به کود آهن معمولی بیشتر بود که این محقیقین دلیل آن را خلالیت سریعتر این نـوع کود در گیاه بیان کردند.

مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن بود که کودهای زیستی سبب افزایش معنی‌دار عملکرد زیستی نسبت به شاهد شدند. بین کودهای زیستی مختلف نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود داشت به‌نحوی‌که بیشترین عملکرد زیستی در تلقیح با میکوریزا *G. intraradices* (با میانگین ۱۴۰۰ کیلوگرم در هکتار) و*G. mosseae* (۱۳۸۵ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد. سپس باکتری آزوسپریلیوم (۱۳۱۸کیلوگرم در هکتار) و بعد از آن باکتری ازتوباکتر (۱۳۱۷ کیلوگرم در هکتار) توانستند عملکرد زیستی را به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط عدم تلقیح (۱۱۷۶ کیلوگرم در هکتار) در گیاه دارویی سیاهدانه افزایش دهند (جدول ۴-۱۳). در همین زمینه کریمی فرد و همکاران (۱۳۹۶) افزایش عملکرد بیولوژیک گیاه دارویی سیاهدانه را در گیاهان همزیست با قارچ‌های میکوریزا بیان کردند. خرم‌دل و همکاران (۱۳۸۷) نیز اعلام کردند تلقیح قارچ میکوریزا بر روی گیاه دارویی سیاهدانه منجر به افزایش تجمع ماده خشک محصول نسبت به شاهد شده است. در یک بررسی نشان داده شد که مخلوط قارچ‌های *G. mosseae* و *G. fasiculatum* میزان رشد و زیست توده را در گیاهان میزبان پیاز، گشنیز و ریحان افزایش می‌دهد(باسو و اسریواستوا، ۱۹۹۸). در پژوهش آریاگادا و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی گیاه دارویی اکالیپتوس انجام شد، مشاهده شد که کاربرد دو گونه از قارچ میکوریزا به‌نام های *G. mosseae* و *G. deserticola* باعث افزایش قابل ملاحظه وزن خشک گیاه در مقایسه با شاهد شد.

جوشی و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای که بر روی گیاه دارویی *Scutellaria integrifolia* انجام دادند اظهار داشتند که تلقیح ریشه این گیاه با میکوریزا باعث افزایش رشد گیاه شده است. در پژوهشی دیگر تلقیح گیاه باقلا با قارچ میکوریزا تولید ماده خشک این گیاه نسبت به شاهد افزایش یافت (عبدل فتاح و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج حاصل از تحقیق سایلو و باگیاراج (۲۰۰۵) در بررسی اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا آرباسکولار، بر رشد گیاه دارویی *Coleus forskohlii* حاکی از آن است

که زیست توده گیاه در گیاهان تحت تأثیر در گیاهان تحت تیمار قارچ میکوریزا نسبت به شاهد افزایش یافت. چادری و همکاران (۲۰۰۷) با کاربرد دو گونه از قارچ میکوریزا گزارش کردند که عملکرد ماده خشک درمنه نسبت به شاهد افزایش یافته است. در تحقیقی دیگر افزایش ماده خشک گیاه در اثر کاربرد میکوریزا گزارش شده است (فابر و همکاران، ۱۹۹۱). با این حال رایت و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که با وجود افزایش سرعت فتوسنتز شبدر سفید میکوریزایی شده، زیست توده این گیاه افزایش معنی‌داری با شاهد نداشت.

نتایج تحقیق یوسف و همکاران (۲۰۰۴) حاکی از آن است که در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis*)، استفاده از کود بیولوژیک حاوی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه و در نتیجه افزایش زیست توده در چین‌های اول و دوم در طی دو فصل گردید. این محققان اظهار داشتند که کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات و جایگزینی آنها با تنظیم کننده‌های رشد مصنوعی در بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه مریم گلی کارایی بالایی دارند. نتایج مشابهی نیز در مورد افزایش معنی‌دار عملکرد زیستی گندم در حالت تلقیح بذر با باکتری های محرک رشد توسط زاید و همکاران (۲۰۰۳) گزارش شده است. آنان اظهار داشتند که باکتری های محرک رشد با تأمین منابع نیتروژن اضافی یا تولید هورمون‌های رشد و همچنین افزایش وزن و حجم ریشه و کمک به جذب بهینه آب و املاح، به بهبود رشد گیاه کمک می‌کنند. بررسی کومار و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که ماده خشک گیاهی در شرایط تلقیح با ازتوباکتر بیشتر از شرایط عدم تلقیح بوده است. در آزمایش سید شریفی و حیدری سیاه خلکی (۱۳۹۴) نیز عملکرد زیستی گندم در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. این محققان افزایش شاخص سطح برگ و افزایش طول عمر برگ که دو راه حل اساسی برای جذب تشعشع بیشتر و تولید ماده خشک بالاتر در گیاه است راعاملی موثر در افزایش عملکرد بیولوژیک گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد بیان کردند.

بنابراین می‌توان بیان کرد که تلقیح با کودهای زیستی به ویژه قارچ‌های میکوریزا، از طریق بهبود میزان جذب عناصر غذایی و افزایش فتوسنتز سبب افزایش ارتفاع، تعداد شاخه جانبی و همچنین عملکرد دانه و اجزای عملکرد شدند که افزایش هر کدام از این اندام‌ها افزایش بیوماس را به دنبال خواهد داشت..

## ۴-۵ - صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای)

### ۴-۵-۱ - درصد روغن

تجزیه آماری داده‌ها نشان داد درصد روغن سیاهدانه تنها تحت تأثیر اثرات اصلی تیمارهای مورد بررسی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال ۵ درصد) و کودهای زیستی (در سطح احتمال ۱ درصد) قرار گرفت (پیوست ۱۰).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان درصد روغن دانه با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن با میانگین (۲۲/۹۶ درصد) به‌دست آمد که با تیمار محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان نیز در تیمار شاهد با میانگین ۲۰/۹۸ درصد حاصل شد (جدول ۴-۱۴).

کیخا و همکاران (۱۳۸۴) نیز افزایش عملکرد روغن دانه کلزا را با مصرف ۵ در هزار سولفات آهن گزارش کردند. سینگ و سینها (۲۰۰۵) گزارش کردند که کاربرد آهن در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری درصد روغن دانه کلزا را بهبود داد. این پژوهشگران بهبود درصد روغن را ناشی از تأثیر مثبت آهن در فرآیند تشکیل اسیدهای چرب اظهار داشتند. نتایج آزمایش بیاتی و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد کاربرد ۶ گرم در لیتر نانو کود آهن میزان روغن دانه کلزا در حدود ۳۲/۹۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد که با محلول‌پاشی نانو کلات آهن به واسطه افزایش رشد سبزینه‌ای، بهبود کلروفیل سازی گیاه که در این آزمایش نیز مشاهده شد، افزایش ظرفیت و فرایند فتوسنتزی، اندام‌های زایشی بیشتری ساخته شده و سهم دریافتی مواد پرورده

آنها نیز افزایش می‌یابد. در نتیجه ضمن افزایش اجزای عملکـرد و عملکـرد دانـه، عملکـرد روغـن افزوده می‌شود (ملکوتی و سپهر، ۱۳۸۳).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تلقیح با کودهای زیستی نیز در افزایش میزان درصد روغن نسبت به شاهد موثر می‌باشند. همچنین بین کودهای زیستی مختلف نیز تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بدین ترتیب که بیشترین میزان درصد روغن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* حاصل شد. میزان روغن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (با میانگین ۲۵/۷۱ درصد) در حدود ۳۰/۱۱ درصد بیشتر از شاهد بود. بعد از این گونه از قارچ گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* و باکتری ازتوباکتر (به‌ترتیب با میانگین‌های ۲۲/۶۶ و ۲۲درصد) به میزان ۳۰/۱۱ و ۱۱/۳۳ درصد نسبت به شاهد میزان روغن دانه بیشتری داشتند. در این آزمایش تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم هر چند میزان روغن را نسبت به شرایط عدم تلقیح با کودهای زیستی افزایش داد اما این میزان افزایش تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۴-۱۴).

در آزمایش قلی‌نژاد (۱۳۹۶) میزان روغن دانه کنجد تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی افزایش یافت. در آزمایش آنها *G. mosseae* در افزایش میزان روغن دانه نسبت به *G. intraradices* تأثیر بیشتری داشت. تلقیح با قارچ *G. mosseae* و*G. intraradices* در مقایسه با عدم تلقیح میکوریزا عملکرد روغن را در سویا به‌ترتیب ۱۲ و ۲۰ درصد افزایش داد (صمصامی و همکاران.، ۱۳۹۸). بررسی‌های سـلیمان زاده و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد کـه عملکـرد روغن در اثر ازتوباکتر به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت؛ به‌طـوری که بذرهای تلقیح شده با ازتوباکتر نسبت به بذور تلقیح نشـده دارای هفت درصد عملکرد روغن بیشتری بودنـد. در آزمایش نظر لی و سید شریفی (۱۳۹۲) میزان روغن دانه آفتابگردان تلقیح شده با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین با توجه به نتایج آزمایش این محققین باکتری ازتوباکتر نسبت به آزوسپریلیوم در افزایش میزان روغن دانه موثرتر بود.

بنابراین با توجه به نتایج آزمایش از آنجایی که دو غلظت مورد استفاده از نانو اکسید آهن تفاوت معنی‌داری در میزان روغن سیاهدانه ایجاد نکردند به نظر می‌رسد انتخاب غلظت کمتر با صرفه جویی در مصرف نانوکود به همراه قارچ *G. intraradices* می‌تواند تأثیر بسزایی در افزایش میزان روغن گیاه سیاهدانه داشته باشد.

جدول ۴-۱۴- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای)

| تیمار | میزان روغن (درصد) | میزان اسانس (درصد) | عملکرد اسانس (گرم در متر مربع) | میزان تیموکینون (درصد) |
|---|---|---|---|---|
| محلول‌پاشی نانو اکسید آهن | | | | |
| شاهد | ۲۰/۹۸ b | ۱/۰۱ b | ۱/۵۳ a | ۳۲/۲۵ b |
| ۱/۵ گرم در لیتر | ۲۲/۲۷ a | ۱/۰۷ a | ۱/۶۴ a | ۳۴/۱۱ a |
| ۳گرم در لیتر | ۲۲/۹۶ a | ۱/۰۸ a | ۱/۶۵ a | ۳۴/۴۳ a |
| کود زیستی | | | | |
| شاهد | ۱۹/۷۶ d | ۰/۹۹ b | ۱/۰۲ d | ۳۱/۸۵ b |
| *G. intraradices* | ۲۵/۷۱ a | ۱/۱۳ a | ۲/۳۲ a | ۳۶/۱۳ a |
| *G. mosseae* | ۲۲/۶۶ b | ۱/۱۱ a | ۲/۰۶ b | ۳۵/۴۲ a |
| آزوسپریلیوم | ۲۰/۲۱ cd | ۱/۰۳ b | ۱/۳۳ c | ۳۱/۵۷ b |
| ازتوباکتر | ۲۲/۰۰ bc | ۰/۹۹ b | ۱/۳۰ c | ۳۳/۰۲ b |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

### ۴-۵-۲ - درصد و عملکرد اسانس

نتایج تجزیه آماری داده ها نشان داد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن تنها بر درصد اسانس تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت و اثر این تیمار بر عملکرد اسانس سیاهدانه معنی‌دار نشد. تیمار کودهای زیستی بر هر دو صفت درصد اسانس و عملکرد اسانس سیاهدانه در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری داشت و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی بر میزان و عملکرد اسانس معنی‌دار نشد (پیوست ۱۰).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها با محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان اسانس در گیاه سیاهدانه نسبت به شاهد افزایش یافت. اما دو غلظت مورد مورد استفاده ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن

(به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۰۷ و ۱/۰۸ درصد) تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. محلول‌پاشی نانو اکسید آهن عملکرد اسانس را نیز نسبت به شاهد افزایش داد اما این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۴-۱۴).

عوامل زیادی وجود دارد که سبب تغییر کمیت و کیفیت اسانس می‌شوند که یکی ازآنها مصرف عناصر غذایی است. گیاهان دارویی در طول دوره رویش برای تولید مناسب اسانس و مواد موثره به مقدار کافی عناصر ریز مغذی نیاز دارند، به‌طوری که تامین این عناصر، مقدار و عملکرد اسانس را تا حد زیادی افزایش می‌دهد (شعبان‌ژاده و همکاران، ۱۳۹۰). اسانس‌ها از گروه شیمیایی ترپن‌ها هستند یا منشا ترپنی دارند؛ واحد سازنده ترپن ها از جمله ایزوپنتیل پیروفسفات و دی متیل آلیل پیرو فسفات نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند. فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی رابطه مستقیمی با تولید اسانس در گیاهان دارد. همبستگی بین فتوسنتز و تولید اسانس نشان می‌دهد که گلوکز به عنوان پیش ماده مناسب برای تولید NADPH و ATP در سنتز اسانس و به‌ویژه مونوترپن‌ها عمل می‌کند (دوبی و همکاران، ۲۰۰۳). به‌نظر می‌رسد که مقدار گلوکز حاصل از فتوسنتز، سوبسترای لازم را برای تامین انرژی و سنتز ترکیب‌های موثر در اسانس فراهم می‌کند. افزایش آهن در گیاه، سبب افزایش توان فتوسنتزی و افزایش پیش‌سازهای ترکیبات فنولی مورد نیاز برای سنتز اسانس ها و در نتیجه افزایش تولید اسانس میشود (دوبی و همکاران، ۲۰۰۳). به‌نظر می‌رسد با توجه به تأثیر عنصر آهن در رشد و نمو گیاه، میتوان یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر این عنصر در ساختمان کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح کننده اسانس در برگ منجر شود (دوبی و همکاران، ۲۰۰۳). گزارشات زیادی وجود دارد که نتایج آزمایش حاضر را مورد تایید قرار می‌دهند و حاکی از آن است محلول‌پاشی نانو اکسید آهن می‌تواند میزان اسانس را درگیاهان دارویی افزایش دهد. از جمله در آزمایش مقدم و همکاران (۱۳۹۴) محلول‌پاشی ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر نانو کلات آهن میزان اسانس را در گیاه ریحان به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در آزمایش آنها بین دو غلظت مصرفی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

محلول‌پاشی نانو کلات آهن در گیاه گل محمدی سبب افزایش معنی‌دار درصد اسانس نسبت به شاهد شد و محققان دلیل این افزایش را دسترسی آسان‌تر غنچه‌ها و اندام‌های هوایی گیاه به کود کم تحرک آهن و نقش آن در فتوسنتز و کمک به جذب سایر عناصر دانستند (لایق حقیقی و همکاران، ۱۳۹۵). محمودی و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کردند که محلول‌پاشی نانو آهن سبب افزایش معنی‌دار ۵۰/۷ درصدی عملکرد اسانس نسبت به عدم محلول‌پاشی در گیاه گل گاوزبان اروپایی شد. مصرف عناصر کم مصرف از جمله آهن میزان اسانس را در نعناع ۱/۵ تا ۲ برابر افزایش داد (پنده و همکاران، ۲۰۱۱). زهتاب سلماسی و همکاران (۲۰۰۸)، عبدالوهاب و محمد (۲۰۰۸) نیز افزایش میزان اسانس و ترکیبات آروماتیک را در نتیجه محلول‌پاشی عناصر کم مصرف آهن و روی را گزارش کردند.

در این آزمایش تلقیح با قارچ‌های میکوریزا میزان اسانس و عملکرد اسانس را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴-۱۴) بیشترین میزان اسانس در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۱۳ و ۱/۱۱ درصد مشاهده شد که به‌ترتیب سبب افزایش ۱۴/۱۴ و ۱۲/۱۲ درصدی میزان اسانس نسبت به شاهد شدند. سپس باکتری آزوسپریلیوم با میانگین ۱/۰۳ درصد میزان اسانس را درگیاه سیاهدانه افزایش داد که با گیاهان تلقیح شده با ازتوباکتر و بدون تلقیح تفاوت معنی‌داری نداشت.

بیشترین میزان عملکرد اسانس نیز به‌ترتیب از گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices*، *G. mosseae*، آزوسپریلیوم و ازتوباکتر به‌ترتیب با میانگین‌های ۲/۳۲، ۲/۰۶، ۱/۳۳ و ۱/۳۰ گرم در متر مربع به‌دست آمد که با شاهد (با میانگین ۱/۰۲ گرم در متر مربع) تفاوت معنی‌داری داشتند. در بررسی مشابهی که به همین منظور بر روی شوید و زیره انجام گرفته بود، ملاحظه شد که کاربرد میکوریزا به‌طور قابل توجهی میزان اسانس این گیاهان را در مقایسه با شاهد بهبود بخشید (کاپور و همکاران، ۲۰۰۴). در آزمایش معصومی زواریان و همکاران (۱۳۹۴) نیز میکوریزا موجب افزایش درصد اسانس بذرگیاه دارویی انیسون شد، به نحوی که درصد اسانس در تلقیح با *G. intraradices*،

۱۵/۹۵درصد و در تلقیح با *G. mosseae* ۲۱/۵۹ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. نتایج آزمایشات محفوظ و شرف الدین (۲۰۰۷) برروی گیاه رازیانه و فاتما و همکاران (۲۰۰۶) بیانگر اثرات مثبت کودهای بیولوژیک ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، باکتری‌های حل‌کننده فسفات و میکوریزا بر درصد اسانس گیاهان مذکور بود. در تفسیر نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر برخی محققین اظهار داشتند از آنجایی که اسانس‌ها ترکیباتی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آنها (ایزوپرونوئیدی) مانند ایزوپنتیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP)، نیاز مبرم به (ATP) و (NADPH) دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبات اخیر ضروری می‌باشد (لومیس و کورتئو، ۱۹۹۰). از این‌رو کودهای زیستی از طریق جذب کارآمد فسفر و تا حدودی نیتروژن توسط ریشه سیاهدانه، موجب افزایش اسانس این گیاه دارویی شد.

**۴-۵-۳ - میزان تیموکینون اسانس**

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان تیموکینون اسانس سیاهدانه تنها تحت تأثیر اثرات جداگانه دو تیمار مورد بررسی محلول‌پاشی نانو اکسید آهن (در سطح احتمال ۵ درصد) و کودهای زیستی (در سطح احتمال ۱ درصد) معنی‌دار شد و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر میزان این صفت نداشت (پیوست ۱۰).

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول۴-۱۴) نشان داد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان تیموکینون را نسبت به شاهد افزایش داد اما بین دو غلظت مصرفی ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن به‌ترتیب با میانگین‌های ۳۴/۱۱ و ۳۴/۴۳ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به‌نظر می‌رسد با توجه به تأثیر عناصر آهن در رشد و نمو گیاه، می‌توان یکی از دلایل بیشتر شدن میزان اجزای اسانس را افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و نقش این عنصر در فعالیت ساختمان کلروپلاست دانست که این افزایش می تواند منجر به تولید بیشتر اجزای اسانس شود (ایوانس، ۱۹۹۶). در آزمایش پیرزاد و همکاران (۱۳۹۲) محلول‌پاشی آهن موجب افزایش میزان اسانس و اجزای اصلی اسانس گیاه آنیسون شامل هومولن و استراگول آنیسون شده و این افزایش با محلول‌پاشی روی بیشتر شد.

در بین کودهای زیستی تلقیح با قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به‌ترتیب با میانگین‌های ۳۶/۱۳ و ۳۵/۴۲ درصد به‌طور معنی‌داری میزان تیموکینون را نسبت به باکتری‌های محرک رشد و شرایط بدون تلقیح افزایش دادند. ایجاد تغییرات کیفی در اسانس گیاهان مختلف در اثر تلقیح میکوریزایی توسط محققین مختلف گزارش گردیده است. افزایش محتوای مونوترپن ها در گیاه درمنه (راپارینی و همکاران، ۱۹۹۶)، افزایش مقادیر ژرانیول و لینالول و کاهش مقادیر آنتول و بتا-المن در اسانس گشنیز (کاپور و همکاران، b ۲۰۰۲) افزایش مقادیر لیمونن و کارون در اسانس شوید و افزایش مقدار تیمول در اسانس زنیان (کاپور و همکاران، a ۲۰۰۲) مثال‌های بارزی از تأثیر مایه‌کوبی با قارچ میکوریزا بر اجزاء متشکله اسانس گیاهان می‌باشد. در آزمایش محمودزاده و همکاران (۱۳۹۴) بیشترین تغییر مشاهده شده در اثر تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در اجزاء منتول، منتون و ایزو منتون اسانس نعناع فلفی مشاهده شد. بدین ترتیب که مایه کوبی قارچ‌ها باعث افزایش مقادیر منتون و ایزومنتون گردیدند.

از آنجایی که استفاده از غلظت ۱/۵گرم در لیتر نانو اکسید آهن در کمیت و میزان تیموکینون اسانس سیاهدانه تفاوت معنی‌داری با محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن ایجاد نکرد به نظر می‌رسد مصرف توأم ۱/۵ گرم در لیتر نانواکسید آهن و قارچ میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* می تواند در افزایش کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی سیاهدانه موثر واقع شود.

## ۴-۶ - درصد همزیستی قارچ میکوریزا (آزمایش گلدانی)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از تأثیر معنی‌دار اثر قارچ میکوریزا در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت داشت. اثر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر این صفت در گیاه سیاهدانه نداشتند (پیوست ۱۱).

گیاهان تلقیح شده با دو گونه قارچ میکوریزا بیشترین درصد همزیستی را نسبت به شاهد به خود اختصاص دادند که با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۴-۱۵) بین دو گونه مختلف قارچ میکوریزا نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در این آزمایش گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا *G.*

*intraradices* (۷۳/۴۶ درصد) بیشترین درصد همزیستی ریشه را به خود اختصاص داد و گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* (۶۲/۰۱ درصد) در رتبه بعدی قرار داشتند. در آزمایش کریمی‌فرد و همکاران (۱۳۹۶) تلقیح گیاه سیاهدانه با *G. mosseae* درصد همزیستی را ۴۶/۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. بیطرفان و همکاران (۱۳۹۶) با مطالعه دو گونه قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* در گیاه آویشن باغی میزان کلونیزاسیون حاصل از تلقیح *G. intraradices* را ۴۵ درصد، *G. mosseae* را ۴۴/۱۶ درصد و تیمار شاهد را ۱۱/۶۶ درصد گزارش کردند. در آزمایشی دیگر درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه آویشن باغی با تیمارهای میکوریزا *G. mosseae* و *G. intraradices* به‌ترتیب به میزان ۲۳ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (عظیمی و همکاران، ۱۳۹۲). عامریان و همکاران (۲۰۰۱) با بررسی تأثیر دو گونه *G. mosseae* و *G. intraradices* روی ذرت به این نتیجه رسیدند که گونه *G. mosseae* بیشترین درصد کلونیزاسیون را به میزان ۹۳/۵ درصد دارد و درصد همزیستی ریشه درگیاهان تلقیح شده با گونه *G. intraradices* معادل ۷۸/۳ درصد بود. این توانایی به خصوصیات کورتکس و اپیدرم ریشه گیاه بستگی دارد. در این آزمایش مشخص شد که گیاه سیاهدانه قادر به همزیستی با قارچ میکوریز است و همچنین درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه سیاهدانه با تیمار میکوریزا *G. intraradices* به‌طور معنی‌داری بیشتر از درصد کلونیزه شدن ریشه این گیاه با میکوریزا *G. mosseae* بوده است در نتیجه این قارچ در افزایش اکثر صفات کیفی و کمی مورد مطالعه در سیاهدانه کارآمدتر بوده و چنین به‌نظر می‌رسد که با تلقیح سیاهدانه با این گونه از قارچ می‌توان به نتایج قابل قبولی دست یافت.

جدول ۴-۱۵- مقایسه میانگین‌های تأثیر محلول‌پاشی نانواکسید آهن و کودهای زیستی درصد همزیستی قارچ‌های میکوریزا (آزمایش گلدانی)

| تیمار | درصد همزیستی |
|---|---|
| شاهد | ۳۰/۴۶ c |
| *G. intraradices* | ۷۳/۴۶ a |
| *G. mosseae* | ۶۲/۰۱ b |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد ندارند

## ۴-۷ - همبستگی بین صفت‌ها

ارزیابی همبستگی بین صفت‌های مطالعه شده در آزمایش مزرعه‌ای در جدول ۴- ۱۶ و آزمایش گلدانی در جدول ۴-۱۷ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل همبستگی ارتباط مثبت و منفی صفت ها با یکدیگر را در شرایط محلول‌پاشی نانو اکسید آهن به‌همراه کاربرد کودهای زیستی نشان می‌دهد.

نتایج ضرایب همبستگی داده‌ها در آزمایش مزرعه‌ای (جدول ۴-۱۶) نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین اجزای عملکرد شامل تعداد کپسول در بوته (R = ۰/۸۵۷**)، تعداد دانه در کپسول (R =۰/۷۱۰**) و وزن هزاردانه (R =۰/۸۱۸**) با عملکرد دانه وجود دارد که نشان دهنده این موضوع می‌باشد که افزایش در هر یک از این اجزا افزایش عملکرد دانه را به دنبال خواهد داشت. عملکرد دانه با ارتفاع بوته (R =۰/۷۴۹**) و عملکرد بیولوژیک (R =۰/۷۸۳**) نیز از همبستگی معنی‌دار و مثبتی برخوردار بود.

مطالعه فاضل کاخکی و همکاران (۱۳۹۵) نیز نشان داد که عملکرد دانه زیره سبز همبستگی مثبت و معنی‌داری با ارتفاع بوته، تعداد چترک در بوته، تعداد دانه در چترک و وزن هزار دانه دارد. همبستگی عملکرد دانه با عملکرد زیستی بیانگر آن است که با افزایش زیست توده، امکان انتقال مواد فتوسنتزی تولیدی به اندام زایشی بهبود یافته و از طریق بهبود در تولید دانه در بوته، عملکرد دانه نیز افزایش می‌یابد (جدی حسینی و همکاران، ۱۳۸۶). علاوه بر اجزای عملکرد، همبستگی عملکرد دانه با میزان عناصر نیتروژن (R =۰/۷۰۸**)، فسفر(R =۰/۴۷۲**)، پتاسیم (R =۰/۵۵۷**) و آهن

($R = ۰/۸۳۱^{**}$) موجود در دانه نیز مثبت و معنی‌دار بود که متقیان و همکاران (۱۳۸۹) نیز در پژوهشی همبستگی این عناصر با عملکرد دانه در سویا را مثبت و معنی‌دار گزارش کردند.

همبستگی صفات کیفی مورد بررسی در این آزمایش نیز با عناصر موجود در دانه مثبت و معنی‌دار بود. لازم به ذکر است در بین عناصر مورد بررسی بیشترین همبستگی بین محتوای آهن با عملکرد اسانس ($R = ۰/۷۰۸^{**}$)، درصد اسانس ($R = ۰/۷۰۸^{**}$)، درصد تیموکینون اسانس ($R = ۰/۷۰۸^{**}$) و همچنین درصد روغن ($R = ۰/۷۰۸^{**}$) مشاهده شد که می‌تواند بیانگر نقش این عنصر در افزایش کیفیت این گیاه دارویی باشد که مقایسه میانگین داده‌های حاصل از این آزمایش و همچنین بررسی منابع دیگر نیز این نتیجه را تایید می‌کند.

نتایج ضرایب همبستگی حاصل از داده‌های آزمایش گلدانی (جدول ۴-۱۷) نشان داد که بین محتوای هر یک از عناصر در ریشه و اندام هوایی همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که افزایش جذب هر عنصر در ریشه به طبع می‌تواند سبب افزایش محتوای آن عنصر در اندام هوایی شود و به‌دنبال آن افزایش میزان آن عنصر در دانه گیاه نیز دور از انتظار نخواهد بود. از آنجایی که بین میزان این عناصر در گیاه با طول و وزن ریشه و همچنین طول و وزن اندام هوایی همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت می‌توان اینگونه اظهار کرد که هر تیماری که بتواند سبب افزایش وزن و طول ریشه و اندام هوایی در گیاه سیاهدانه شود افزایش میزان این عناصر در اندام‌های گیاه (ریشه، اندام هوایی و دانه) را به‌دنبال خواهد داشت و در نهایت می‌تواند سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی در گیاه شود (کانت و کافکافی، ۲۰۰۵).

همبستگی عناصر موجود در اندام‌های گیاه با میزان رنگدانه های فتوسنتزی نیز مثبت و معنی‌دار بود. در آزمایش گلدانی بیشترین همبستگی کلروفیل کل در گیاه با میزان نیتروژن موجود در اندام هوایی ($R = ۰/۸۰۰^{**}$) و میزان آهن موجود در اندام هوایی ($R = ۰/۸۰۸^{**}$) مشاهده شد (جدول ۴-۱۷)که نقش این دو عنصر در افزایش میزان رنگدانه های فتوسنتزی به اثبات رسیده است (بیاتی و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج ضرایب همبستگی داده‌های حاصل از آزمایش مزرعه‌ای (جدول ۴-۱۶) نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیلa ($R = ۰/۸۶۸^{**}$)، کلروفیل b ($R = ۰/۷۹۴^{**}$)، کلروفیل کل ($R = ۰/۸۴۵^{**}$)، کاروتنوئید ($R = ۰/۸۷۷^{**}$)، آنتوسیانین ($R = ۰/۷۰۷^{**}$) و فلاونوئید ($R = ۰/۷۲۵^{**}$) با عملکرد دانه وجود دارد. همچنین این رنگیزه‌های فتوسنتزی با صفات کیفی مورد مطالعه در این آزمایش مانند درصد روغن، درصد و عملکرد اسانس و درصد تیموکینون اسانس در گیاه دارویی سیاهدانه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند. در واقع وجود سطح سبزینه مطلوب و فعال و افزایش توان فتوسنتزی بالا و بهبود انرژی در گیاه، اثر مطلوبی بر صفات کمی و کیفی خواهد داشت (بیاتی و همکاران، ۱۳۹۳).

به‌طور کلی با توجه به تتایج ضرایب همبستگی می‌توان اینگونه بیان کرد که در این آزمایش محلول‌پاشی نانو اکسید آهن با غلظت ۱/۵ گرم در لیتر با هدف صرفه جویی در میزان مصرف کود نانو آهن با توجه به اینکه افزایش معنی‌داری با مصرف سه گرم نانو اکسید آهن در صفات کمی و کیفی سیاهدانه مشاهده نشد به همراه قارچ میکوریزا به‌ویژه *G. intraradices* می‌تواند شرایط مساعدی را جهت رشد گیاه فراهم کند و افزایش طول و وزن ریشه با افزایش جذب آب و عناصر غذایی بیشتر می‌تواند سبب افزایش وزن و طول اندام هوایی شده (بین طول ریشه و طول اندام هوایی $R = ۰/۹۲۷^{**}$ و وزن ریشه با وزن اندام هوایی $R = ۰/۸۳۰^{**}$ نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت) همچنین افزایش میزان رنگدانه های فتوسنتزی در گیاه و به دنبال آن افزایش فرآورده‌های فتوسنتزی و افزایش عملکرد کمی و کیفی در گیاه دارویی سیاهدانه باشد.

جدول ۴-۱۶ ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش مزرعه‌ای

| | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱- عملکرد دانه | ۱ | | | | | | | | | | | |
| ۲- عملکردزیستی | ۰/۷۴۹** | ۱ | | | | | | | | | | |
| ۳- وزن هزاردانه | ۰/۸۱۸** | ۰/۷۷۸** | ۱ | | | | | | | | | |
| ۴- تعداد دانه در کپسول | ۰/۷۱۰** | ۰/۵۷۱** | ۰/۴۱۷** | ۱ | | | | | | | | |
| ۵- تعداد کپسول دربوته | ۰/۸۵۷** | ۰/۷۶۷** | ۰/۷۸۳** | ۰/۷۳۹** | ۱ | | | | | | | |
| ۶- ارتفاع | ۰/۷۸۳** | ۰/۵۹۵** | ۰/۶۷۳** | ۰/۷۷۶** | ۰/۷۴۸** | ۱ | | | | | | |
| ۷- تعداد شاخه در بوته | ۰/۶۱۷** | ۰/۶۴۷** | ۰/۶۴۲** | ۰/۵۰۲** | ۰/۶۰۸** | ۰/۵۰۰** | ۱ | | | | | |
| ۸- درصد تیموکینون اسانس | ۰/۵۷۳** | ۰/۵۵۹** | ۰/۵۱۲** | ۰/۵۱۰** | ۰/۵۵۲** | ۰/۴۶۵** | ۰/۲۸۹ns | ۱ | | | | |
| ۹- درصد روغن | ۰/۶۴۹** | ۰/۴۵۹** | ۰/۵۶۸** | ۰/۴۴۲** | ۰/۶۴۹** | ۰/۴۶۸** | ۰/۵۴۴** | ۰/۳۱۱** | ۱ | | | |
| ۱۰- عملکرد اسانس | ۰/۹۷۵** | ۰/۷۵۳** | ۰/۸۰۵** | ۰/۷۲۰** | ۰/۸۵۷** | ۰/۷۷۰** | ۰/۵۸۶** | ۰/۷۲۹** | ۰/۶۲۳** | ۱ | | |
| ۱۱- درصد اسانس | ۰/۵۷۳** | ۰/۵۵۹** | ۰/۵۱۲** | ۰/۵۱۰** | ۰/۵۵۲** | ۰/۴۶۵** | ۰/۲۸۹ns | ۰/۹۲۱** | ۰/۳۱۱** | ۰/۷۲۹** | ۱ | |
| ۱۲- کلروفیل a | ۰/۸۶۸** | ۰/۸۰۸** | ۰/۸۲۸** | ۰/۷۱۹** | ۰/۸۶۵** | ۰/۸۴۷** | ۰/۵۸۲** | ۰/۶۲۱** | ۰/۶۷۳** | ۰/۸۷۳** | ۰/۶۲۱** | ۱ |
| ۱۳- کلروفیلb | ۰/۷۹۴** | ۰/۶۸۶** | ۰/۶۴۸** | ۰/۷۱۴** | ۰/۷۸۲** | ۰/۷۷۶** | ۰/۵۱۱** | ۰/۶۰۰** | ۰/۶۵۷** | ۰/۸۲۲** | ۰/۶۰۰ns | ۰/۸۹۱** |
| ۱۴- کلروفیل کل | ۰/۸۴۵** | ۰/۷۳۵** | ۰/۷۶۰** | ۰/۷۳۵** | ۰/۸۳۶** | ۰/۸۲۶** | ۰/۵۵۳** | ۰/۶۲۵** | ۰/۶۸۱** | ۰/۸۶۵** | ۰/۶۲۵** | ۰/۹۵۸** |
| ۱۵- کاروتنوئید | ۰/۸۷۷** | ۰/۸۳۵** | ۰/۸۴۶** | ۰/۷۳۵** | ۰/۸۷۲** | ۰/۸۰۹** | ۰/۶۳۴** | ۰/۶۰۸** | ۰/۵۹۸** | ۰/۸۷۵** | ۰/۶۰۸** | ۰/۹۳۱** |
| ۱۶- آنتوسیانین | ۰/۷۰۷** | ۰/۷۴۱** | ۰/۷۰۲** | ۰/۵۷۵** | ۰/۷۰۸** | ۰/۶۰۲** | ۰/۵۳۵** | ۰/۵۷۵** | ۰/۶۸۳** | ۰/۷۲۴** | ۰/۵۷۵** | ۰/۸۵۶** |
| ۱۷- فلاونوئید | ۰/۷۲۵** | ۰/۷۴۳** | ۰/۷۲۸** | ۰/۵۷۵** | ۰/۷۴۲** | ۰/۶۱۱** | ۰/۵۴۰** | ۰/۵۱۸** | ۰/۷۰۸** | ۰/۷۲۷** | ۰/۵۱۸** | ۰/۸۶۶** |
| ۱۸- فعالیت کاتالاز | -۰/۳۶۹* | -۰/۳۰۶* | -۰/۳۲۲* | -۰/۲۳۲ns | -۰/۴۲۱** | -۰/۲۹۰ns | -۰/۳۵۴* | -۰/۰۱۹ns | -۰/۰۹۳ns | -۰/۳۱۸* | -۰/۰۱۹ns | -۰/۱۶۶ns |
| ۱۹- فعالیت آسکوربات پراکسیداز | -۰/۴۳۲** | -۰/۳۰۹* | -۰/۳۲۰* | -۰/۳۴۹* | -۰/۴۶۵** | -۰/۳۹۴** | -۰/۳۳۳* | -۰/۱۱۹ns | -۰/۰۷۹ns | -۰/۴۰۱** | -۰/۱۱۹ns | -۰/۲۲۸ns |
| ۲۰- فعالیت پلی فنول اکسیداز | -۰/۴۰۶** | -۰/۲۶۲ns | -۰/۳۳۸* | -۰/۳۱۳* | -۰/۴۶۲** | -۰/۳۷۶* | -۰/۳۲۱* | -۰/۱۲۶ns | -۰/۰۷۱ns | -۰/۳۷۳* | -۰/۱۲۶ns | -۰/۱۹۳ns |
| ۲۱- غلظت نیتروزن دانه | ۰/۷۰۸** | ۰/۶۳۴** | ۰/۷۳۰** | ۰/۴۰۸** | ۰/۶۱۹** | ۰/۴۹۳** | ۰/۵۴۲** | ۰/۴۱۷** | ۰/۴۸۲** | ۰/۶۹۴** | ۰/۴۱۷** | ۰/۶۷۴** |
| ۲۲- غلظت پتاسیم دانه | ۰/۴۷۲** | ۰/۶۴۰** | ۰/۴۵۷** | ۰/۳۶۷* | ۰/۴۹۵** | ۰/۳۷۸** | ۰/۴۸۸** | ۰/۴۷۴** | ۰/۳۰۶* | ۰/۴۹۷*ns | ۰/۴۷۴*ns | ۰/۵۰۵*ns |
| ۲۳- غلظت فسفر دانه | ۰/۵۵۷** | ۰/۶۰۲** | ۰/۴۷۷** | ۰/۴۶۰** | ۰/۵۱۲** | ۰/۴۶۰** | ۰/۴۸۳** | ۰/۴۵۶** | ۰/۴۱۹** | ۰/۵۷۵** | ۰/۴۵۶** | ۰/۵۵۲** |
| ۲۴- غلظت آهن دانه | ۰/۸۳۱** | ۰/۷۴۲** | ۰/۸۲۲** | ۰/۶۶۴** | ۰/۸۱۶** | ۰/۷۲۳** | ۰/۵۹۰** | ۰/۵۶۶** | ۰/۶۱۱** | ۰/۸۲۷** | ۰/۵۶۶** | ۰/۸۳۶** |

ادامه جدول ۴-۱۶

| | ۱۳ | ۱۴ | ۱۵ | ۱۶ | ۱۷ | ۱۸ | ۱۹ | ۲۰ | ۲۱ | ۲۲ | ۲۳ | ۲۴ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱۳- کلروفیلb | ۱ | | | | | | | | | | | |
| ۱۴- کلروفیل کل | ۰/۹۸۳** | ۱ | | | | | | | | | | |
| ۱۵- کاروتنوئید | ۰/۸۳۸** | ۰/۸۹۸** | ۱ | | | | | | | | | |
| ۱۶- آنتوسیانین | ۰/۸۴۴** | ۰/۸۷۱** | ۰/۸۳۴** | ۱ | | | | | | | | |
| ۱۷- فلاونوئید | ۰/۸۰۹** | ۰/۸۵۴** | ۰/۸۵۵** | ۰/۹۴۵** | ۱ | | | | | | | |
| ۱۸- فعالیت کاتالاز | -۰/۰۷۴ns | -۰/۱۱۳ns | -۰/۲۴۵ns | ۰/۱۶۷ns | ۰/۱۰۳ns | ۱ | | | | | | |
| ۱۹- فعالیت آسکوربات پراکسیداز | -۰/۱۸۷ns | -۰/۲۰۸ns | -۰/۲۹۷ns | ۰/۰۶۱ns | ۰/۰۳۳ns | ۰/۸۶۹** | ۱ | | | | | |
| ۲۰- فعالیت پلی فنول اکسیداز | -۰/۱۰۷ns | -۰/۱۴۴ns | -۰/۳۰۵* | ۰/۱۳۲ns | ۰/۰۸۲ns | ۰/۹۳۲** | ۰/۸۷۹** | ۱ | | | | |
| ۲۱- غلظت نیتروزن دانه | ۰/۵۸۱** | ۰/۶۳۴** | ۰/۷۰۲** | ۰/۶۰۳** | ۰/۶۵۷** | -۰/۲۰۱ns | -۰/۲۰۹ns | -۰/۱۸۷ns | ۱ | | | |
| ۲۲- غلظت پتاسیم دانه | ۰/۴۷۶** | ۰/۵۰۰** | ۰/۵۰۶** | ۰/۵۵۸** | ۰/۴۹۱** | -۰/۱۰۵ns | -۰/۱۷۱ns | -۰/۰۹۶ns | ۰/۳۸۹** | ۱ | | |
| ۲۳- غلظت فسفر دانه | ۰/۵۳۵** | ۰/۵۵۶** | ۰/۵۵۲** | ۰/۵۶۰** | ۰/۴۸۳** | -۰/۱۵۷ns | -۰/۲۵۱ns | -۰/۱۵۱ns | ۰/۵۱۸** | ۰/۶۶۱** | ۱ | |
| ۲۴- غلظت آهن دانه | ۰/۷۶۸** | ۰/۸۱۶** | ۰/۹۳۲** | ۰/۷۹۸** | ۰/۸۰۹** | -۰/۱۸۲ns | -۰/۲۷۱ns | -۰/۲۶۲ns | ۰/۷۲۰** | ۰/۴۶۷** | ۰/۵۶۵** | ۱ |

جدول ۴-۱۷ ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش گلدانی

| | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱- طول ادام هوایی | ۱ | | | | | | | | | | | | |
| ۲- طول ریشه | ۰/۹۲۷** | ۱ | | | | | | | | | | | |
| ۳- وزن خشک اندم هوایی | ۰/۲۴۹ns | ۰/۲۹۲ns | ۱ | | | | | | | | | | |
| ۴- وزن خشک ریشه | ۰/۳۹۹** | ۰/۴۳۶** | ۰/۸۳۰** | ۱ | | | | | | | | | |
| ۵-نسبت وزن ریشه به بوته | ۰/۳۰۴* | ۰/۲۶۷ns | -۰/۳۹۳** | ۰/۱۵۹ns | ۱ | | | | | | | | |
| ۶- نسبت طول ریشه به بوته | ۰/۸۴۷** | ۰/۹۸۱** | ۰/۳۱۰* | ۰/۴۵۳** | ۰/۲۴۷ns | ۱ | | | | | | | |
| ۷- درصد نیتروژن در بوته | ۰/۶۸۹** | ۰/۶۸۶** | ۰/۵۲۶** | ۰/۶۳۶** | ۰/۱۹۹ns | ۰/۶۶۵** | ۱ | | | | | | |
| ۸- غلظت فسفر در بوته | ۰/۳۸۰** | ۰/۴۱۰** | ۰/۶۹۶** | ۰/۷۵۰** | ۰/۰۰۹ns | ۰/۴۱۰** | ۰/۷۱۹** | ۱ | | | | | |
| ۹- غلظت پتاسیم در بوته | ۰/۳۰۶* | ۰/۲۸۰ns | ۰/۴۹۷** | ۰/۴۳۸** | -۰/۱۷۰ns | ۰/۲۷۰ns | ۰/۵۶۲** | ۰/۵۸۶** | ۱ | | | | |
| ۱۰- غلظت آهن در بوته | ۰/۴۰۰** | ۰/۳۹۶** | ۰/۶۷۷* | ۰/۷۲۰** | ۰/۰۴۲ns | ۰/۳۹۳** | ۰/۷۱۶** | ۰/۷۹۱** | ۰/۵۵۱** | ۱ | | | |
| ۱۱- درصد نیتروژن در ریشه | ۰/۴۳۹** | ۰/۴۳۹** | ۰/۵۴۲** | ۰/۶۱۵** | ۰/۱۱۸ns | ۰/۴۲۸** | ۰/۷۲۱** | ۰/۷۷۰** | ۰/۵۶۵** | ۰/۷۶۹** | ۱ | | |
| ۱۲- غلظت فسفر در ریشه | ۰/۴۷۰** | ۰/۴۹۱** | ۰/۶۹۴** | ۰/۷۳۵** | ۰/۰۱۶ns | ۰/۴۸۷** | ۰/۸۰۲** | ۰/۹۴۷** | ۰/۶۳۷** | ۰/۸۳۱** | ۰/۸۳۴** | ۱ | |
| ۱۳- غلظت پتاسیم در ریشه | ۰/۳۱۹* | ۰/۳۱۱* | ۰/۵۰۶** | ۰/۵۱۴** | -۰/۰۳۶ns | ۰/۳۱۶* | ۰/۶۲۲** | ۰/۶۲۷** | ۰/۸۷۰** | ۰/۶۰۴** | ۰/۶۱۹** | ۰/۶۴۴** | ۱ |
| ۱۴- غلظت اهن در ریشه | ۰/۴۰۰** | ۰/۴۲۶** | ۰/۶۳۲** | ۰/۷۱۰** | ۰/۱۱۳ns | ۰/۴۳۳** | ۰/۷۸۰** | ۰/۸۴۸** | ۰/۵۶۵** | ۰/۵۵۸** | ۰/۷۶۰** | ۰/۸۹۳** | ۰/۶۲۸** |
| ۱۵- کلروفیل a | ۰/۵۳۵** | ۰/۵۲۰** | ۰/۶۳۷** | ۰/۷۲۰** | ۰/۱۳۳ns | ۰/۵۰۷** | ۰/۷۶۷** | ۰/۶۸۶** | ۰/۵۵۹** | ۰/۷۷۰** | ۰/۶۷۱** | ۰/۷۳۳** | ۰/۶۲۸** |
| ۱۶- کلروفیل b | ۰/۴۳۵** | ۰/۳۹۱** | ۰/۵۹۱** | ۰/۶۷۵** | ۰/۱۳۲ns | ۰/۳۶۵** | ۰/۷۷۲** | ۰/۷۹۶** | ۰/۶۱۵** | ۰/۷۸۹** | ۰/۷۶۰** | ۰/۸۴۷** | ۰/۶۵۰** |
| ۱۷- کلروفیل کل | ۰/۵۲۶* | ۰/۵۰۱** | ۰/۶۴۹** | ۰/۷۳۵** | ۰/۱۳۸ns | ۰/۴۸۳** | ۰/۸۰۰** | ۰/۷۴۹** | ۰/۶۰۰** | ۰/۸۰۸** | ۰/۷۲۷** | ۰/۷۹۹** | ۰/۶۶۱** |
| ۱۸- کاروتنوئید | ۰/۶۹۹** | ۰/۶۹۶** | ۰/۵۷۰** | ۰/۶۵۶** | ۰/۱۷۱ns | ۰/۶۷۷** | ۰/۷۹۴** | ۰/۶۷۸** | ۰/۵۷۲** | ۰/۷۲۸** | ۰/۶۴۱** | ۰/۷۲۰** | ۰/۶۸۲** |
| ۱۹- آنتوسیانین | ۰/۵۱۶** | ۰/۵۳۳** | ۰/۶۵۲** | ۰/۶۶۹** | ۰/۰۵۱ns | ۰/۵۲۸** | ۰/۶۹۶** | ۰/۶۳۷** | ۰/۵۱۰** | ۰/۶۷۵** | ۰/۶۴۷** | ۰/۶۶۳** | ۰/۶۲۴** |
| ۲۰- فلاونوئید | ۰/۴۱۸** | ۰/۴۳۰** | ۰/۴۲۱** | ۰/۶۰۲** | ۰/۲۶۴ns | ۰/۴۶۲** | ۰/۵۶۳** | ۰/۵۵۱** | ۰/۴۰۶** | ۰/۶۲۰** | ۰/۵۸۴** | ۰/۵۷۲** | ۰/۵۱۳** |
| ۲۱- آسکوربات پراکسیداز در برگ | -۰/۱۶۶ns | -۰/۱۹۱ns | -۰/۱۵۲ns | -۰/۱۰۳ns | ۰/۱۵۶ns | -۰/۱۹۶ns | -۰/۲۵۹ns | -۰/۳۵۹* | -۰/۱۵۶ns | -۰/۲۶۰ns | -۰/۲۷۸ns | -۰/۴۰۲** | -۰/۱۶۶ns |
| ۲۲- کاتالاز در برگ | -۰/۵۹۹** | -۰/۶۳۴** | -۰/۳۶۵* | -۰/۵۰۶** | -۰/۱۷۲ns | -۰/۶۴۲** | -۰/۶۴۳** | -۰/۶۵۸** | -۰/۴۴۶** | -۰/۵۴۸** | -۰/۵۶۲** | -۰/۶۹۱** | -۰/۵۴۴** |
| ۲۳- پلی فنول اکسیداز در برگ | -۰/۱۵۵ns | -۰/۱۸۲ns | -۰/۱۳۶ns | -۰/۰۷۶ns | ۰/۱۶۶ns | -۰/۱۹۴ns | -۰/۲۵۶ns | -۰/۳۶۴* | -۰/۲۰۱ns | -۰/۲۲۶ns | -۰/۲۲۹ns | -۰/۳۹۸** | -۰/۲۰۵ns |
| ۲۴- آسکوربات پراکسیداز در ریشه | -۰/۳۶۵* | -۰/۴۰۶** | -۰/۵۹۰** | -۰/۶۳۵** | -۰/۰۳۷ns | -۰/۴۲۳** | -۰/۷۴۹** | -۰/۸۴۹** | -۰/۵۷۱** | -۰/۸۱۴** | -۰/۷۷۲** | -۰/۸۹۴** | -۰/۶۴۱** |
| ۲۵- پلی فنول اکسیداز در ریشه | -۰/۴۸۲** | -۰/۵۱۸** | -۰/۴۰۱** | -۰/۴۸۳** | -۰/۱۲۹ns | -۰/۵۲۱** | -۰/۶۷۵** | -۰/۶۷۰** | -۰/۴۰۴** | -۰/۶۳۵** | -۰/۶۷۵** | -۰/۷۳۰** | -۰/۴۹۱** |
| ۲۶- کاتالاز در ریشه | -۰/۴۰۶** | -۰/۴۲۰** | -۰/۴۴۲** | -۰/۴۴۲** | -۰/۰۳۸ns | -۰/۴۲۰** | -۰/۵۹۵** | -۰/۶۳۹** | -۰/۵۹۴** | -۰/۶۵۰** | -۰/۷۰۲** | -۰/۷۴۸** | -۰/۵۱۸** |

ادامه جدول ۴-۱۷

| | ۱۴ | ۱۵ | ۱۶ | ۱۷ | ۱۸ | ۱۹ | ۲۰ | ۲۱ | ۲۲ | ۲۳ | ۲۴ | ۲۵ | ۲۶ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱۴- غلظت اهن در ریشه | ۱ | | | | | | | | | | | | |
| ۱۵- کلروفیل a | ۰/۵۳۵$^{**}$ | ۱ | | | | | | | | | | | |
| ۱۶- کلروفیل b | ۰/۴۳۵$^{**}$ | ۰/۸۶۰$^{**}$ | ۱ | | | | | | | | | | |
| ۱۷- کلروفیل کل | ۰/۵۲۶$^{*}$ | ۰/۹۳۸$^{**}$ | ۰/۹۰۸$^{*}$ | ۱ | | | | | | | | | |
| ۱۸- کاروتنوئید | ۰/۶۹۹$^{**}$ | ۰/۸۳۶$^{**}$ | ۰/۷۷۷$^{**}$ | ۰/۸۵۲$^{**}$ | ۱ | | | | | | | | |
| ۱۹- آنتوسیانین | ۰/۵۱۶$^{**}$ | ۰/۸۸۰$^{**}$ | ۰/۷۸۷$^{**}$ | ۰/۸۸۷$^{**}$ | ۰/۸۸۲$^{**}$ | ۱ | | | | | | | |
| ۲۰- فلاونوئید | ۰/۴۱۸$^{**}$ | ۰/۵۶۷$^{**}$ | ۰/۵۸۰$^{**}$ | ۰/۵۹۵$^{**}$ | ۰/۵۹۸$^{**}$ | ۰/۵۷۴$^{**}$ | ۱ | | | | | | |
| ۲۱- آسکوربات پراکسیداز در برگ | -۰/۱۶۶$^{ns}$ | ۰/۰۴۹$^{ns}$ | -۰/۰۶۳$^{ns}$ | ۰/۰۱۵$^{ns}$ | -۰/۰۷۶$^{ns}$ | ۰/۰۶۵$^{ns}$ | -۰/۱۱۳$^{ns}$ | ۱ | | | | | |
| ۲۲- کاتالاز در برگ | -۰/۵۹۹$^{**}$ | -۰/۴۷۱$^{**}$ | -۰/۴۹۰$^{**}$ | -۰/۴۹۶$^{**}$ | -۰/۶۹۰$^{**}$ | -۰/۴۴۳$^{**}$ | -۰/۵۲۵$^{**}$ | ۰/۶۰۲$^{**}$ | ۱ | | | | |
| ۲۳- پلی فنول اکسیداز در برگ | -۰/۱۵۵$^{ns}$ | ۰/۰۸۰$^{ns}$ | -۰/۰۳۲$^{ns}$ | ۰/۰۴۸$^{ns}$ | -۰/۱۱۱$^{ns}$ | ۰/۱۴۳$^{ns}$ | -۰/۱۵۰$^{ns}$ | ۰/۹۰۰$^{**}$ | ۰/۶۴۶$^{**}$ | ۱ | | | |
| ۲۴- آسکوربات پراکسیداز در ریشه | -۰/۳۶۵$^{*}$ | -۰/۶۰۹$^{**}$ | -۰/۷۱۹$^{**}$ | -۰/۶۶۹$^{**}$ | -۰/۶۶۹$^{**}$ | -۰/۵۴۴$^{**}$ | -۰/۵۸۳$^{**}$ | ۰/۵۰۳$^{**}$ | ۰/۷۰۳$^{**}$ | ۰/۵۳۸$^{**}$ | ۱ | | |
| ۲۵- پلی فنول اکسیداز در ریشه | -۰/۴۸۲$^{**}$ | -۰/۴۶۸$^{**}$ | -۰/۵۴۷$^{**}$ | -۰/۵۱۳$^{**}$ | -۰/۶۳۵$^{**}$ | -۰/۳۸۴$^{*}$ | -۰/۴۸۱$^{**}$ | ۰/۵۲۵$^{*}$ | ۰/۷۹۳$^{*}$ | ۰/۶۰۴$^{**}$ | ۰/۸۰۲$^{**}$ | ۱ | |
| ۲۶- کاتالاز در ریشه | -۰/۴۰۶$^{**}$ | -۰/۴۱۶$^{**}$ | -۰/۵۶۳$^{**}$ | -۰/۴۸۰$^{**}$ | -۰/۴۷۹$^{**}$ | -۰/۳۳۲$^{ns}$ | -۰/۵۲۱$^{**}$ | ۰/۵۱۱$^{**}$ | ۰/۶۱۵$^{**}$ | ۰/۵۸۰$^{**}$ | ۰/۷۸۰$^{**}$ | ۰/۶۸۱$^{**}$ | ۱ |

# نتیجه گیری

# و

# پیشنهادات

## نتیجه‌گیری

نتایج هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای نشان داد محلول‌پاشی با غلظت سه گرم نانو اکسید آهن در یک لیتر آب از کارایی بیشتری در تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی برخوردار بود. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (به غیر از فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در برگ و ریشه آزمایش گلدانی) در هر دو آزمایش با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو اکسید آهن از ۱/۵ به سه گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که به نظر می‌رسد به دلیل ایجاد سمیت این یون در گیاه باشد و با توجه به نقش آهن در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به نظر می‌رسد غلظت ۱/۵ گرم نانو اکسید آهن می‌تواند غلظتی مناسب برای گیاه باشد.

نتایج آزمایش نشان داد محلول‌پاشی نانو اکسید آهن هر چند سبب افزایش اجزای عملکرد و عملکرد دانه شد اما با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت در صورتی که محلول‌پاشی نانو اکسید آهن میزان روغن، اسانس و میزان تیموکینون را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد و از آنجایی که دو غلظت مورد استفاده تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند به نظر می‌رسد انتخاب غلظت کمتر با صرفه جویی در مصرف کود بدون کاهش معنی‌دار در کیفیت دانه سیاهدانه می‌تواند به عنوان غلظت مناسبی برا افزایش کیفیت دانه این گیاه انتخاب شود.

تلقیح با کودهای زیستی به‌ویژه قارچ *G. intraradices* سبب افزایش معنی‌داری در طول و وزن ریشه و به دنبال آن افزایش جذب عناصر و افزایش رنگدانه های فتوسنتزی و در نهایت سبب افزایش اجزای عملکرد و عملکرد دانه سیاهدانه نسبت به شاهد شد. همچنین در گیاهان تلقیح شده با این قارچ خصوصیات کیفی مانند میزان روغن، درصد و عملکرد اسانس و میزان تیموکینون اسانس به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد و سایر کودهای زیستی افزایش یافت. مطالعه درصد همزیستی نیز در این آزمایش نشان داد که این قارچ بیشترین درصد همزیستی را با ریشه سیاهدانه نسبت به شاهد و حتی قارچ *G. mosseae* داشت.

در نهایت با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد انتخاب غلظت ۱/۵ گرم نانو اکسید آهن به همراه قارچ *G. intraradices* می‌تواند در افزایش عملکرد کمی و کیفی سیاهدانه موثر واقع شود.

## پیشنهادات

۱- آزمایشات تکمیلی از جمله بررسی‌های مولکولی مبنی بر مکانیسم اثر کودهای زیستی انجام شود.

۲- خصوصیات بیشتری از ساختار ریشه‌ها درتعامل با قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد مورد بررسی قرار گیرد.

۳- نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک مورد بررسی مانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه های فتوسنتزی بعد از مرحله اول محلول‌پاشی و مقایسه با داده‌های اندازه‌گیری شده بعد از محلول‌پاشی مرحله دوم انجام شود.

۴- علاوه بر اثرات جداگانه کودهای زیستی مورد بررسی، مصرف توأم کودهای زیستی نیز بر خصوصیات کمی و کیفی سیاهدانه مورد مطالعه قرار گیرد.

۵- غلظت¬هایی از آهن معمولی جهت مقایسه آنها با نانو کود آهن به تیمار¬های مورد بررسی اضافه شود.

۶- افزایش غلظت بیشتر نانو اکسید آهن جهت اثبات سمیتی که می‌تواند این عنصر برای گیاه سیاهدانه ایجاد کند.

# پیوست‌ها

**پیوست ۱- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی (آزمایش گلدانی)**

| | | میانگین مربعات Ms | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید | فلاونوئید | آنتوسیانین |
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰۱۵ ns | ۰/۰۰۲۴ ns | ۰/۰۰۰۳ ns | ۰/۰۰۰۱۴ ns | ۰/۱۷۷ ns | ۰/۰۰۰۰۱۶ * |
| محلول‌پاشی نانوآهن | ۲ | ۴/۳۲۸ ** | ۰/۵۳۸ ** | ۷/۵۰۵ ** | ۰/۰۷۲۸ ** | ۰/۰۶۰ ns | ۰/۰۰۰۶۳ ** |
| کود زیستی | ۴ | ۵/۰۱۹ ** | ۱/۱۸۸ ** | ۱۰/۶۴۶ ** | ۰/۲۹۵۱ ** | ۰/۵۶۳ ** | ۰/۰۰۰۴۸ ** |
| محلول‌پاشی*کود زیستی | ۸ | ۰/۵۱۵ ** | ۰/۰۴ ** | ۰/۶۱۸ ** | ۰/۰۰۲۱ ns | ۰/۰۲۸ ns | ۰/۰۰۰۰۴۲ ** |
| خطا | ۲۸ | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۸۳ | ۰/۱۶۰ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۶۹ | ۰/۰۰۰۰۰۳ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۱/۸۵ | ۶/۴۲ | ۲/۳۸ | ۴/۵۱ | ۸/۱۲ | ۱۰/۸۶ |

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

**پیوست ۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان رنگدانه های فتوسنتزی (آزمایش مزرعه‌ای)**

| | | میانگین مربعات Ms | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | کلروفیلa | کلروفیلb | کلروفیل کل | کاروتنوئید | فلاونوئید | آنتوسیانین |
| بلوک | ۲ | ۰/۰۳۹ ** | ۰/۰۹۶ * | ۰/۲۵۷ ** | ۰/۰۵۷ ** | ۰/۰۰۱ * | ۰/۰۰۰۳۰ * |
| محلول‌پاشی نانوآهن | ۲ | ۰/۶۲۳ ** | ۲/۱۱۶ ** | ۴/۸۱۵ ** | ۰/۱۳۶ ** | ۰/۳۵۶ ** | ۰/۰۱۲۷۱ ** |
| کود زیستی | ۴ | ۳/۰۷۶ ** | ۶/۱۴۲ ** | ۱۷/۸۰ ** | ۱/۵۰۸ ** | ۰/۳۷۳ ** | ۰/۰۰۹۲۴ ** |
| محلول‌پاشی*کود زیستی | ۸ | ۰/۰۲۱ ** | ۰/۵۲۳ ** | ۰/۵۷۲ ** | ۰/۰۰۶ ns | ۰/۰۱۱ ** | ۰/۰۰۰۱۳ ns |
| خطا | ۲۸ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۳۶ | ۰/۰۴۳ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰۰۰۶ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۳/۱۳ | ۱۲/۲۷ | ۵/۳۳ | ۵/۳۹ | ۳/۵۶ | ۵/۶۵ |

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

**پیوست ۳= تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (آزمایش گلدانی)**

| | | میانگین مربعات Ms | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | کاتالاز | | آسکوربات پراکسیداز | | پلی فنول اکسیداز | |
| منابع تغییر | درجه آزادی | برگ | ریشه | برگ | ریشه | برگ | ریشه |
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰۰۰۱۵ | ۰/۰۰۰۰۰۰۵ | ۰/۰۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۳۱ | ۰/۰۰۰۷۴ | ۰/۰۰۰۰۰۹ |
| محلول‌پاشی نانوآهن | ۲ | ۰/۰۰۰۰۹۴$^{**}$ | ۰/۰۰۰۰۶۱$^{**}$ | ۰/۰۰۶۱$^{**}$ | ۰/۰۰۰۳۵$^{*}$ | ۰/۱۳۹۲$^{*}$ | ۰/۰۰۱۶$^{**}$ |
| کود زیستی | ۴ | ۰/۰۰۰۳۶۴$^{**}$ | ۰/۰۰۰۱۶۲$^{**}$ | ۰/۰۰۰۸۰$^{**}$ | ۰/۰۰۹۱$^{**}$ | ۰/۰۱۹۸$^{**}$ | ۰/۰۰۵۹$^{**}$ |
| محلول‌پاشی*کود زیستی | ۸ | ۰/۰۰۰۰۰۰۹$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۰۰۲$^{ns}$ | ۰/۰۰۱۴$^{*}$ | ۰/۰۰۰۰۹$^{ns}$ | ۰/۰۰۵۱۲$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۱$^{ns}$ |
| خطا | ۲۸ | ۰/۰۰۰۰۰۲۸ | ۰/۰۰۰۰۰۴ | ۰/۰۰۰۰۴۸ | ۰/۰۰۰۰۷ | ۰/۰۰۰۷۲ | ۰/۰۰۰۲۳ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۵/۴۳ | ۸/۰۷ | ۱۴/۹۷ | ۶/۱۵ | ۱۴/۳۹ | ۱۱/۰۴ |

$^{ns}$، $^{*}$ و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۴- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (آزمایش مزرعه‌ای)**

| | | میانگین مربعات Ms | | |
|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | کاتالاز | پلی‌فنول اکسیداز | آسکوربات پراکسیداز |
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰۰۰۲ | ۰/۰۰۴۴$^{**}$ | ۰/۰۰۵$^{*}$ |
| محلول‌پاشی نانوآهن | ۲ | ۰/۰۲۲۹۰$^{**}$ | ۸/۲۴۱$^{**}$ | ۱/۴۰۷$^{**}$ |
| کود زیستی | ۴ | ۰/۰۰۳۵۱$^{**}$ | ۱/۴۰۳$^{**}$ | ۰/۲۵$^{**}$ |
| محلول‌پاشی*کود زیستی | ۸ | ۰/۰۰۰۳۱$^{**}$ | ۰/۱۷۵$^{**}$ | ۰/۰۳۷$^{**}$ |
| خطا | ۲۸ | ۰/۰۰۰۰۶ | ۰/۰۱۳۵ | ۰/۰۰۴ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۷/۶۵ | ۶/۹۰ | ۸/۷۴ |

$^{ns}$، $^{*}$ و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۵- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش گلدانی)**

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات Ms | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | طول اندام هوایی | طول ریشه | نسبت طول ریشه به اندام هوایی | وزن خشک اندام هوایی | وزن خشک ریشه | نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی |
| بلوک | ۲ | ۱۲/۸۴ | ۱/۷۳ | ۰/۰۰۰۰۴ | ۰/۰۰۶۵ ns | ۰/۰۰۰۱۳ns | ۰/۰۰۴۴ |
| محلول‌پاشی نانوآهن | ۲ | ۲/۴۸ns | ۱/۵۵ns | ۰/۰۰۰۰۴ ns | ۰/۰۰۸۷ * | ۰/۰۰۰۳۱ * | ۰/۰۰۰۷ ns |
| کود زیستی | ۴ | ۱۳۳/۶۳ ** | ۸۵/۱۸** | ۰/۰۲۶۶ ** | ۰/۰۳۹۲** | ۰/۰۰۱۰۶ ** | ۰/۰۰۱۴ ns |
| محلول‌پاشی*کود زیستی | ۸ | ۲/۱۷ns | ۲/۷۹ ns | ۰/۰۰۱۳۲ ns | ۰/۰۰۷۴ * | ۰/۰۰۰۰۷ ns | ۰/۰۰۱۴ * |
| خطا | ۲۸ | ۵/۹۵ | ۲/۷۰ | ۰/۰۰۰۸۸ | ۰/۰۰۲۷ | ۰/۰۰۰۰۶ | ۰/۰۰۰۵ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۵/۸۶ | ۱۳/۹۲ | ۱۰/۶۰ | ۱۶/۹۲ | ۱۶/۹۷ | ۱۵/۱۱ |

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

**پیوست ۶- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کمی (آزمایش مزرعه‌ای)**

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ارتفاع | تعداد شاخه | تعداد کپسول دربوته | تعداد دانه در کپسول | وزن هزار دانه | عملکرد دانه | عملکرد بیولوزیک |
| بلوک | ۲ | ۱۰/۴۱ ** | ۱۷/۶۴** | ۰/۵۶** | ۳۹۸/۸۹** | ۰/۰۹۵ ** | ۱۶/۸۲** | ۴۸۴۱/۴۸ ** |
| نانو اکسید آهن | ۲ | ۰/۷۱ ns | ۰/۰۶ns | ۱/۷۱ns | ۳/۳۴ ns | ۰/۰۲۰ ns | ۵۵/۷۵ ns | ۵۹۹۴/۴۲ * |
| کود زیستی | ۴ | ۱۷۶/۸۳** | ۱۷/۸۳** | ۱۱۵۷/۳۰** | ۱۰۱۹/۴۶ ** | ۰/۶۰۲** | ۱۶۶۸۵/۹۲** | ۷۰۲۵۹/۱۴ ** |
| نانواکسید آهن * کود زیستی | ۸ | ۰/۳۳ ns | ۰/۵۲ns | ۰/۰۹ns | ۴۹/۶۰ns | ۰/۰۰۴ ns | ۳/۰۰ ns | ۶۴۰/۰۶ ns |
| خطا | ۲۸ | ۱/۳۶ | ۱/۳۴ | ۹/۲۴ | ۳۴/۵۷ | ۰/۰۱۴ | ۲۹۱/۲۷ | ۱۸۲۲/۸۴ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۳/۰۶ | ۱۴/۸۴ | ۱۲/۲۸ | ۹/۸۵ | ۵/۵۷ | ۱۱/۷۸ | ۱۳/۲۳ |

*: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۷- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عناصر اندازه‌گیری شده در دانه (آزمایش مزرعه‌ای)**

| | | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | Fe | N | P | K |
| بلوک | ۲ | ۸۲۲۵/۳۵$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۸$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۳$^{**}$ | ۰/۰۲۶ |
| نانواکسید آهن | ۲ | ۲۶۹۶۰/۶۲$^{*}$ | ۰/۰۲۵۵$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۴$^{ns}$ | ۰/۰۱۶$^{ns}$ |
| کود زیستی | ۴ | ۳۰۳۳۴۹/۵۸$^{**}$ | ۰/۴۷۸۰$^{**}$ | ۰/۰۲۵۵$^{**}$ | ۰/۱۰۷$^{**}$ |
| کود زیستی * نانواکسید آهن | ۸ | ۱۴۲۶۹/۹۵$^{*}$ | ۰/۰۰۵۶$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۱$^{ns}$ | ۰/۰۰۷$^{ns}$ |
| خطا | ۲۸ | ۶۲۱۲/۰۴ | ۰/۰۱۰۹ | ۰/۰۰۰۳ | ۰/۰۱۷ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۹/۴۹ | ۸/۵۵ | ۱۰/۹۹ | ۹/۳۱ |

$^{ns}$، $^{*}$ و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۸- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عناصر اندازه‌گیری شده در اندام هوایی (آزمایش گلدانی)**

| | | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | Fe | N | P | K |
| بلوک | ۲ | ۸۰/۰۲$^{ns}$ | ۰/۰۱۹$^{ns}$ | ۰/۴۰۱$^{**}$ | ۰/۰۰۸۴$^{ns}$ |
| نانواکسید آهن | ۲ | ۱۰۱۶/۹۵$^{**}$ | ۰/۴۳۶$^{ns}$ | ۰/۰۱۴$^{ns}$ | ۰/۰۰۷۱$^{ns}$ |
| کود زیستی | ۴ | ۸۷۸۴/۱۴$^{**}$ | ۲/۵۰۲$^{**}$ | ۰/۰۳۵$^{**}$ | ۰/۰۰۶۲$^{*}$ |
| کود زیستی * نانواکسید آهن | ۸ | ۸۸/۸۴$^{*}$ | ۰/۰۸۱$^{ns}$ | ۰/۰۰۵$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۹$^{ns}$ |
| خطا | ۲۸ | ۷۴/۸۰ | ۰/۲۱۶ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۰۱۶ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۸/۷۳ | ۱۱/۰۴ | ۱۲/۶۰ | ۳/۵۶ |

$^{ns}$، $^{*}$ و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۹- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر میزان عناصر اندازه‌گیری شده در ریشه (آزمایش گلدانی)**

| | | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | Fe | N | P | K |
| بلوک | ۲ | ۲۷۷۶/۴$^{ns}$ | ۰/۰۰۲$^{ns}$ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۱۰ |
| نانواکسید آهن | ۲ | ۲۹۲۳۵/۲ $^{*}$ | ۰/۰۱۰$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۱$^{ns}$ | ۰/۰۱۳$^{ns}$ |
| کود زیستی | ۴ | ۴۱۱۲۸۸/۷ $^{**}$ | ۰/۲۰۷ $^{**}$ | ۰/۰۲۳۸ $^{**}$ | ۰/۰۹۴ $^{**}$ |
| کود زیستی * نانواکسید آهن | ۸ | ۱۱۴۵/۲ $^{ns}$ | ۰/۰۰۴ $^{ns}$ | ۰/۰۰۰۱ $^{ns}$ | ۰/۰۰۳۴ $^{ns}$ |
| خطا | ۲۸ | ۷۲۵۴/۳ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۱۰ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۱۴/۹۸ | ۱۲/۹۹ | ۱۳/۹۰ | ۸/۰۴ |

$^{ns}$، $^{*}$ و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۱۰- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر برخی صفات کیفی (آزمایش مزرعه‌ای)**

| | | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | میزان روغن دانه | میزان اسانس | عملکرد اسانس | میزان تیموکینون |
| بلوک | ۲ | ۰/۸۶ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۳ | ۲/۷۲ |
| نانواکسید آهن | ۲ | ۱۶/۱۵$^{*}$ | ۰/۰۲۰ $^{*}$ | ۰/۰۶۳ $^{ns}$ | ۲۰/۹۲ $^{*}$ |
| کود زیستی | ۴ | ۵۰/۳۵$^{**}$ | ۰/۰۳۸ $^{**}$ | ۲/۷۸ $^{**}$ | ۳۸/۷۶ $^{**}$ |
| کود زیستی * نانواکسید آهن | ۸ | ۰/۴۸$^{ns}$ | ۰/۰۰۷$^{ns}$ | ۰/۰۰۸ $^{ns}$ | ۷/۷۴ $^{ns}$ |
| خطا | ۲۸ | ۴/۴۳ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۵۱ | ۵/۸۹ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۹/۵۴ | ۷/۲۲ | ۱۴/۱۳ | ۷/۲۲ |

$^{ns}$، $^{*}$ و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

**پیوست ۱۱- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن و قارچ‌های میکوریزا بر درصد همزیستی با ریشه (آزمایش گلدانی)**

| میانگین مربعات | | |
|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | درصد همزیستی |
| بلوک | ۲ | ۱۶/۲۴ |
| نانواکسید آهن | ۲ | ۱۷/۸۶$^{ns}$ |
| قارچ میکوریزا | ۲ | ۴۴۶۳/۵۹$^{**}$ |
| قارچ میکوریزا * نانواکسید آهن | ۴ | ۲۸۹/۶۵$^{ns}$ |
| خطا | ۱۶ | ۱۰۴/۸۰۱ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۱۸/۵۰ |

$^{ns}$، $^{*}$و $^{**}$: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

# فهرست منابع

ابراهیمی ز. سرچشمه‌پور م. و حجازی مهریزی م. (۱۳۹۵) "تأثیر مواد هومیک و قارچ میکوریز بر جذب آهن و روی و برخی خصوصیات رشدی سویا در شرایط گلخانه" علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۷(۲۵): ۹۹-۱۰۹.

احتشامی م. پورابراهیمی م. و خاوازی ک. (۱۳۹۲) "تأثیر باکتری *Pseudomonas fluorescens* به همراه کـود فسـفر بـر غلظت عناصر غذایی و عملکرد زیستی در دو رقم جو در شرایط گلخانه" علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۱۶(۴):۱۵-۲۶.

اردشیری ط. و جهان‌بین ش. (۱۳۹۷) "اثر محلول‌پاشی نانو کود کلات آهن و روی بر عملکرد، اجزای عملکرد و شاخص برداشت کلزا در شرایط تنش خشکی" مجله به زراعی کشاورزی،۲۰ (۱): ۳۱-۴۳.

اردکانی م. ر. مظاهری د. مجد ف. و نورمحمدی ق. (۱۳۷۹) "بررسی کارآیی میکوریزا و استرپتومایسس در سطوح مختلف فسفر و تأثیرکاربرد آنها بر عملکرد و برخی صفات گندم" مجله علوم زراعی ایران، ۲: ۲۸-۱۷.

اروجی ی. شبانی ل. شریفی تهرانی م. آقابابایی ف. و انتشاری ش. (۱۳۹۲) "تأثیر همزمان دو قارچ مایکوریزا آرباسکولار بر تولید گلیسیریزین، ترکیبات فنولیک کل و فلاونوئید در ریشه‌های شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)" زیست شناسی گیاهی ایران، ۵ (۱۷): ۷۵-۸۸.

اسماعیل‌پور ب. جلیل‌وند پ. و هادیان ج. (۱۳۹۲). "تأثیر تنش خشکی و قارچ میکوریزا بر برخی از صفات مورفوفیزیولوژیک و عملکرد مرزه (*Satureja hortensis* L.)" نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۵(۲): ۱۶۹-۱۷۷.

اعتمادی ف. مداح حسینی ش. اخگر ع. ر. و دشتی ح. (۱۳۹۱) "بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر برخی شاخص‌های رشدی و عملکرد گلرنگ در سطوح مختلف شوری خاک" مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۴(۱۱): ۷۷-۸۶

افتخاری س. ق. فلاح نصرت آباد ع. اکبری غ. محدثی ع. و اله دادی ا. (۱۳۸۸) "اثر باکتری‌های حل کننده فسفات و کودهای فسفاته بر چگونگی رشد گیاه برنج" نشریه پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، ۲۳(۲): ۲۲۹-۲۳۸.

امیری م. ب. رضوانی مقدم پ. جهان م. صالح آبادی م. و ناصری ن. (۱۳۹۶) "بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum fisch & Mey*) تحت تأثیر تراکم گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف" فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۳(۴): ۶۴۹-۶۶۲.

انصاری آ. رزمجو ج. کریم مجنی ح. و زارعی م. (۱۳۹۳) "تأثیر تلقیح با میکوریزا و پیش تیمار سالیسیلیک اسید در سطوح مختلف خشکی بر خصوصیاتت مورفولوژی و عملکرد بزرک" مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۴(۱۲): ۱۸۱-۱۹۴.

آقابابائی ف. و رئیسی ف. (۱۳۸۸) "بررسی امکان برقراری رابطه همزیستی اندومیکوریزایی در توده‌های بذری چند ژنوتیـپ تجـاری بادام" مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۱۰ :۱۲۷-۱۴۰

بابایی الف، (۱۳۸۴)، پایان‌نامه ارشد"بررسی اثر تنش آب در مراحل رشد و نمو، کمیت و کیفیت اسانس و مقدار روغن سیاهدانه (*Nigella Sativa* L.)" دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

برقی ع. قلیپوری ع. توبه ا. جهانبخش س. و جماعتی ش. (۱۳۹۳) "بررسی اثر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر جذب عناصر غذایی در غده سیب زمینی" مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی، ۱۶: ۱-۱۲.

بستامی ا، (۱۳۹۲)، پایان‌نامه ارشد "تأثیر مصرف کودهای زیستی و دامی بر عملکرد کیفی و کمی گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)" دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان.

بقایی م. و ملکی‌فراهانی س. (۱۳۹۲) " ارزیابی مقایسه کود کلات آهن با بنیان‌های نانو و میکرو بر عملکرد کمی و تخصیص مواد فتوسنتزی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.)" نشریه پژوهش‌های زعفران، ۲: ۱۵۶-۱۶۹.

بنائی م ح. مومنی آ. بایبوردی م. و ملکوتی م. ج. (۱۳۸۴) خاکهای ایران: تحولات نوین در شناسایی، مدیریت و بهره برداری موسسه تحقیقات خاک و آب. انتشارات سنا. تهران. ایران . ۵۰۰ صفحه.

بیاتی ف. آینه بند ا. و فاتح ا. (۱۳۹۳) "بررسی تأثیر مقادیر و زمان‌های کابرد کود آهن نانو بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزا (*Brassica napus* L.)" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۲(۴). ۸۱۲-۸۰۵.

بیطرفان ن. غلامی ا. عباس‌دخت ح. برادران فیروزآبادی م. و خلیقی سیگارودی ف، (۱۳۹۶) "تأثیر ورمی کمپوست و قارچ میکوریزا بر خصوصیات رشد، میزان اسانس و عملکرد آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)" نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۹(۱): ۱۰۲-۱۱۴.

پویان م، (۱۳۶۹) "اطلس گیاهان جنوب خراسان" نشر دانش، نشر پویش، صفحه ۸۶.

پهلوان‌راد م. ر. کیخا غ. ع. و ناروئی‌راد م. ر. (۱۳۸۷) "تأثیر کاربرد روی، آهن و منگنز بر عملکرد، اجزای عملکرد، غلظت و جذب عناصر غذایی در دانه گندم" مجله پژوهش و سازندگی، ۷۹: ۱۴۲-۱۵۰.

پیرزاد ع. طوسی پ. و درویش‌زاده ر. (۱۳۹۲) " اثر محلول‌پاشی عناصر آهن و روی بر صفات گیاهی و میزان اسانس آنیسون" مجله علوم زراعی ایران، ۱۵(۱): ۱۲-۲۳.

پیوندی م. پرنده ه. و میرزا م. (۱۳۹۰) "مقایسه تاثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ریحان(*Ocimum basilicum* L.) " مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-ملکولی، ۱(۴): ۸۹- ۹۸.

تایز ل. زایگر ا، (۱۳۸۱) "فیزیولوژی گیاهی" خانه زیست شناسی (ویرایش سوم) ،تهران، خانه زیست شناسی. ۷۸۰ صفحه.

تدین ع. و سلطانیان م. (۱۳۹۵) "اثر قارچ میکوریزا آرباسکولار بر رشد، میزان کلونیزاسیون ریشه وجذب فسفر بزرک تحت سطوح مختلف کم آبی" فرآیند و کارکرد گیاهی، ۵(۱۵): ۱۴۷-۱۵۷.

توفیقی ک. خاوری‌نژاد ر ع. نجفی ف. رضوی خ و رجالی ف. (۱۳۹۵) "بررسی اثر برهمکنش قارچ میکوریزا آربوسکوالر و تنظیم کننده رشد گیاهی براسینولید بر افزایش تحمّل گندم به تنش شوری" فصلنامه فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۸(۳۰): ۵-۱۹.

توکلی صابری م، (۱۳۶۶) "گیاهان دارویی" انتشارات روزبهان.

جدی حسینی س.م . گالشی س. سلطانی ا. و اکرم قادری ف. (۱۳۸۶) "بررسی خصوصیات فزیولوژیک ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری در پنبه" مجله علوم کشاورزی و منبع طبیعی، ۱۴: ۶۳-۷۱.

جهان م. و نصیری محلاتی م. (۱۳۹۱)" حاصلخیزی خاک و کودهای بیولوژیک (رهیافتی اگرواکولوژیک)" ترجمه. انتشارات دانشگاه فردسی مشهد. ۲۵۰ صفحه.

حقیقت‌نیا ج. و رجایی م. ( ۱۳۸۲ )" بررسی تأثیر میزان و روش مصرف عناصر کم مصرف بر عملکرد کلزا." هشتمین کنگره علوم خاک ایران. گیلان .صفحه۲۵۹-۲۵۴

حمزه ئی ج. و سلیمی ف. (۱۳۹۳) "درصد کلونیزاسیون ریشه، عملکرد و اجزای عملکرد دانه ماریتیغال (*Silybum marianum*) متاثر از تلقیح مایکوریزا و کود فسفره" فصلنامه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲۴(۴): ۸۵-۹۶.

حمیدی آ. اصغرزاده ا. چوگان ر. دهقان شعار م. قلاوند ا. و ملکوتی م. ج. (۱۳۸۶) "بررسی کاربرد کودهای ریزوباکتریایی افزاینده رشد گیاه ( PGPR) در زراعت ذرت با نهاده کافی" علوم محیطی، ۴(۴): ۲۰-۱.

حیدری ف. زهتاب سلماسی س. جوانشیر ع. آلیاری ه. و دادپور م. ر. (۱۳۸۷) "تأثیر نحوه مصرف ریز مغذی‌ها و تراکم بوته بر عملکرد و اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)" فصلنامه تحقیقات و گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۴(۱): ۱-۹.

حیدری م. گلیج م. برادران فیروز آبادی م. و قربانی ه. (۱۳۹۴) "تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد دانه، محتوی یونی و رنگدانه های نورساختی کنجد" مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۶(۴): ۶۱۹-۶۲۸.

خدابنده ن، (۱۳۹۲) "زراعت غلات" نوبت چاپ یازدهم. مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران. ۵۳۸ صفحه.

خرم دل س. کوچکی ع. نصیری محلاتی م. و قربانی م. (۱۳۸۹) "اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۸(۵): ۷۶۸-۷۷۶.

خرم‌دل س. کوچکی ع. نصیری‌محلاتی م. و قربانی ر. (۱۳۸۷) "اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر شاخص-های رشدی سیاهدانه (*Nigell sativa* L.)" مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۶(۲): ۲۸۵ -۲۹۴.

خسروجردی م. شاهسونی ش، قلیپور م. و اصغری م. ر. (۱۳۹۲) "تأثیر تلقیح باکتری ریزوبیوم و قارچ میکوریزای بـر جذب برخی عناصر معدنی توسط نخود در سطوح مختلف کود سولفات آهن" نشریه تولید گیاهان زراعی، ۳(۶): ۷۱-۸۷.

خسروی ه، (۱۳۸۷)، پایان‌نامه دکتری "تأثیر باکتری‌های ریزوبیومی مولد- ACC دآمیناز (PGPR) بر

رشد گندم در شرایط شوری و خشکی" دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

خواجه‌پور م ر، (۱۳۶۳)" اصول و مبانی زراعت" انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان، ۴۰۰ صفحه.

خیام نکویی س. شریف نسب م. ح. احمدی صومعه ک . برخی م. و مؤمنی ر. (۱۳۸۸)" نگاهی به فناوری نانو در وزارت جهاد کشاورزی". ویرایش دوم. نشر آموزش کشاورزی.

داداش‌زاده س. سید شریفی ر. و فرزانه س. (۱۳۹۶) "برهمکنش قطع آبیاری، کودهای زیستی و محلول‌پاشی آهن بر عملکرد و برخی صفات مورفولوژیک جو (*Hordeum vulgare* L.)" فصلنامه فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۹(۳۶): ۵-۲۵.

داوودی‌فرد م. حبیبی د. پاک‌نژاد ف. فاضلی ف. و فرهادی‌پاد پ. (۱۳۸۹) "بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه واسید سیلیسیک برروی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت شرایط تنش خشکی درگیاه گندم" مجله زراعت و اصلاح نباتات، ۶(۴): ۱۱-۳۶.

درزی م. ت. حاج سید هادی م. ر. و رجالی ف. (۱۳۹۱) " تأثیر کاربرد کود دامی و باکتری‌های محرک رشد بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و عملکرد گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)" فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۸(۳): ۴۳۴-۴۴۶.

درزی م ت. قلاوند ا. و ف. رجالی. (۱۳۸۷) "بررسی اثر کاربرد میکوریزا، ورمی کمپوست و کود فسفات زیستی بر گلدهی عملکرد بیولوژیک و همزیستی ریشه در گیاه دارویی رازیانه" مجله علوم زراعی ایران، ۱۰(۱): ۸۸ - ۱۰۹.

دقیقیان ن. حبیبی د. مدنی ح. و ساجدی ن. (۱۳۹۰) "بررسی تأثیر بهترین روش و زمان مصرف باکتری‌های محرک رشد روی جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم و عملکرد دانه در لوبیا ( *Phaseolus vulgaris* L.)" فصلنامه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۳ (۱): ۹۵-۱۰۰.

دهقانیان ح. حلاجنیا ض. لکزیان ا. و آستارایی ع. ر. (۱۳۹۶) "بررسی اثر کاربرد کرم خاکی *Eisenia fetiba*و قارچ میکوریزا آربوسکولار *mosseae* بر برخی از خصوصیات میکروبی خاک و جذب نیتروژن و فسفر توسط ذرت*Zea mays* " نشریه زیست شناسی خاک، ۵(۲): ۱۲۳- ۱۳۶.

دهقانی مشکانی م. ر. نقدی بادی ح. درزی م. مهرآفرین ع. رضازاده ش. و کدخدا ز. (۱۳۸۹) "تأثیر کودهای زیستی بر عملکـرد کمی و کیفی گیاه بابونه شیرازی (*Matricaria recutita* L.)" فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۰(۳۸): ۳۵-۴۸.

راعی ی، شریعتی ج. و ویسانی و. (۱۳۹۴) "تأثیر کودهای بیولوژیک بر درصد روغن، عملکرد و اجزای عملکرد دانه گلرنگ در سطوح مختلف آبیاری" نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲۵(۱):۲۵-۸۴.

رجالی ف. علیزاده ع. صالح راستین ن. و ملکوتی م. ج. (۱۳۸۰) "تأثیر رابطه همزیستی میکوریزی بر اصلاح روابط آبی گیاه میزبان و افزایش تحمل آن به خشکی" مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور، صفحه: ۴۵۷-۴۳۵

رجالی ف، (۱۳۸۴) "مروری اجمالی بر همزیستی میکوریزی" جلد اول: مبانی و کاربردها. نشریه فنی، شماره ۴۷۸. انتشارات سنا.

رجبزاده ف، (۱۳۸۸)، پایان‌نامه ارشد "جداسازی، شناسایی و بهکارگیری باکتری *Azospirillum* spp از باکتری‌های PGPR در افزایش رشد برنج در شرایط گلخانه‌ای" دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

رحمت‌زاده س. و جلیل خ. (۱۳۸۷) "تأثیر پرتو UV-C بر روی رشد و برخی از فاکتورهای ریخت شناسی و فیزیولوژیک در گیاهان گندم همزیست با سه گونه از قارچ‌های میکوریز" زیست‌شناسی ایران، ۲۱(۱):۵۲-۶۳

رشنو م. ح. طهماسبی سروستانی ز. حیدری شریف آبادی ح. مدرس ثانوی س. ع. م. و توکل افشاری ر. (۱۳۹۱) "اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی آهن و روی بر ویژگی‌های کمی و کیفی دو گونه یونجه یکساله" مجله تولید گیاهان زراعی، ۶(۱): ۱۲۶-۱۴۶.

رضائی چیانه ا. جلالیان ج. ابراهیمیان ا. و سیدی س. م. (۱۳۹۴) "اثر کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی زنیان در سطوح مختلف آبیاری" مجله به زراعی کشاورزی، ۱۷(۳): ۷۷۵-۷۸۸.

رضایی ر. س. حسینی م. شعبانعلی قمی ح. و صفا ل. (۱۳۸۸) "شناسایی و تحلیل موانع فناوری نانو در بخش کشاورزی ایران از دیدگاه محققان" فصلنامه علمی پژوهشی سیاست علم و فناوری، ۲(۱): ۱۷-۲۶.

رضوانی م. اردکانی م. ر. رجالی ف. نورمحمدی ق. زعفریان ف. و تیموری س. (۱۳۸۸) "تأثیر سویه‌های مختلف قارچ میکوریزا روی ویژگی‌های ریشه و غلظت فسفر، پتاسیم، روی و آهن یونجه (*Medicagi sativa* L.)" مجله دانش نوین کشاورزی، ۵(۱۵):۵۵-۶۶

رفیعی دمنه م. شبانی ل. و شریفی تهرانی م. (۱۳۹۳) "القاء مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدان در گیاهچه-های فستوکای تلقیح شده با قارچ *Glomus intraradices* تحت تنش سمیت نیکل" مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، ۳(۸): ۴۶-۳۵.

زمانی ف. امیرنیا ر. رضایی چیانه ا. و رحیمی ا. (۱۳۹۷) "بررسی اثر کودهای زیستی باکتریایی و قارچ میکوریزا بر عملکرد دانه و ترکیبات شیمیایی سه توده رازیانه" به زراعی کشاورزی، ۲۰(۴): ۸۳۱-۸۴۸.

ساجدی ن. ع. و رجالی ف. (۱۳۹۰) "تأثیر تنش خشکی، کاربرد روی و تلقیح میکوریزایی بر جذب عناصر کم مصرف در ذرت" مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، ۲۵(۲): ۸۳-۹۲.

ساجدی ن. ع. و اردکانی م. ر. (۱۳۸۷) "اثر مقادیر مختلف کود نیتروژن، روی و آهن بر شاخص‌های فیزیولوژیک ذرت علوفه‌ای در استان مرکزی" مجله پژوهش‌های علوم زراعی ایران، ۶(۱): ۹۹-۱۱۰.

سپهری ع. و وزیری امجد ز. (۱۳۹۴) "اثر نانوکودهای آهن و روی بر عملکرد کمی کاسنی در تراکم‌های مختلف کاشت" نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۶۱-۷۴.

سرمدنیا، غ. و کوچکی، ع. ۱۳۶۸. فیزیولوژی گیاهان زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۴۰۰ صفحه.

سلیمانی ف. و پیرزاد ع. ر. (۱۳۹۴) "تأثیر قارچ‌های میکوریزا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط کمبود آب" تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۱(۶): ۱۰۱۳-۱۰۲۳

سید شریفی ر. و حیدری سیاه خلکی م. ص. (۱۳۹۴) "تأثیر کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های رشدی و سهم فرایند انتقال مجدد ماده خشک در عملکرد دانه گندم" مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۸(۲): ۳۲۶-۳۴۳.

شاملو ع. و روزبهانی آ. (۱۳۹۴)"اثر کاربرد آمینواسید و عناصر ریز مغذی بر رنگدانه های فتوسنتزی و عملکرد لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.)" اکوفیزیولوژی گیاهی، ۷(۲۱): ۱۳۶-۱۵۰.

شریفی م. محتشمیان م. س. ریاحی ح. آقایی ا. و علوی س. م. (۱۳۹۰) "اثر قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum* بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان" فصلنامه گیاهان داروئی، ۲(۳۸): ۸۵-۹۴.

شعبان‌زاده ش. رمرودی م. و گلوی م.(۱۳۹۰) "تأثیر محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی بر عملکرد دانه و ویژگی‌های کیفی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در رژیم‌های مختلف آبیاری" مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی، ۱(۲):۷۹-۸۹.

شیرانی‌راد ا. ح. و عیلزاده ع. (۱۳۷۹) "بررسی اثر قارچ‌های میکوریزوسیکولار-آرباسکولار، باکتری (*Bradyrhizobium japonicum*) و فسفر بر کارآیی جذب برخی عناصر غذایی در سویا" مجله نهال و بذر، ۱۶: ۱۹۲ -۱۷۱.

شیخ بگلو ر. محمد صدقی م. تاجبخش شیشوان م. و سیدشریفی ر. (۱۳۹۰) "اثر محلول‌پاشی نانو اکسید آهن بر میزان عناصر معدنی دانه سویا" اولین کنگره ملی علوم و فناوری‌های نوین کشاورزی. زنجان.

صالح راستین ن. (۱۳۸۰) "کودهای بیولوژیک و نقش آنها در راستای نیل به کشاورزی پایدار" مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. ص ۱-۵۴.

صالحی ا. قلاوند ا. سفیدکن ف. و اصغرزاده ا. (۱۳۹۰) "تأثیر کاربرد زئولیت، مایه تلقیح میکروبی و ورمیکمپوست بر غلظت عناصر N ،P، K، میزان اسانس و عملکرد اسانس در کشت ارگانیک گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*)" فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۷(۲): ۱۸۸-۲۰۱.

صمصامی ن. نخزری مقدم ع. راحمی کاریزکی ع. و قلی‌نژاد ا. (۱۳۹۸) "اثر قارچ میکوریزا و باکتری رایزوبیوم بر صفات کمی و کیفی سویا در واکنش به تنش خشکی" به زراعی کشاورزی، ۲۱(۱): ۱۳-۲۶.

ضرابی مافی ف، (۱۳۹۲)، پایان‌نامه ارشد "اثرات محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی بر عملکرد و اجزای

عملکرد ذرت شیرین تحت شرایط تنش خشکی" دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری.

ضیایی س. ت. محرری ت. و حسین‌زاده ح. (۱۳۹۱) "بررسی اثرات داروشناسی و سم شناسی سیاهدانه" فصلنامه گیاهان دارویی، ۲(۴۲):۱۶-۴۲.

ضیائیان ع. ح. (۱۳۸۲)"استفاده از عناصر کم مصرف در کشاورزی".انتشارات آموزش کشاورزی. ص. ۱۹۹-۲۰۷

عطایی م. (۱۳۹۰)" نگرشی بر کاربد فناوری نانو در حیطه علوم کشاورزی" همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی.

عظیمی ر. جنگجو م. و اصغری ح. ر. (۱۳۹۲) "تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر استقرار اولیه و خصوصیات مورفولوژیک گیاه دارویی آویشن باغی در شرایط عرصه طبیعی" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۱(۴): ۶۶۶-۶۷۶.

علی‌آبادی فراهانی ح. ارباب ع. عباس زاده ب. (۱۳۸۷) "تأثیر سوپر فسفات تریپل، تنش کم آبی و کود بیولوژیک *Glomus hoi* بر تعدادی از صفات کمی و کیفی گیاه دارویی *Coriandrum sativum L.*" فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۴(۱): ۱۸-۳۰.

علی‌آبادی فراهانی ح. و ولدآبدی س. ر. (۱۳۸۹) " نقش قارچ میکوریز آربسکولار بر گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در شرایط تنش خشکی" نشریه پژوهش‌های خاک، ۲۴(۱): ۶۹-۸۰.

علیزاده خ. رضائی چیانه ا. امیرنیا، ر. و برین م. (۱۳۹۸) "اثر کاربرد تلفیقی ریزو باکتری‌های محرک رشذ و قارچ میکوریزا در کشت مخلوط بزرک (*Linum usitatissimum* L.) و باقلا (*Vicia faba* L.) بر خصوصیات رشدی و عملکرد دانه" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۷(۱): ۱۲۳-۱۴۰.

غلامی ا. کوچکی ع. مظاهری د. و قلاوند ا. (۱۳۷۸) "ارزیابی اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریز از نوع ویسکولار- آرباسکولار (VAM). بر خصوصیات رشد ذرت" مجله علوم زراعی ایران، ۱(۳): ۵۴-۴۷.

غلامی ل. یثربی ج. کریمیان ن. زراعی م. و رونقی ع. (۱۳۹۵) "اثر سطوح روی، همزیستی میکوریز آربوسکولار و دو نوع ماده آلی بر رشد و جذب عناصر غذایی کم مصرف گیاه ذرت در یک خاک آهکی" علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۷(۲۶): ۴۷-۵۷.

فاضل کاخکی س. ف. نباتی ج. امامی م. و علوی کیا ع. (۱۳۹۵) "ارزیابی صفات مورفولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی زیره سبز تحت تأثیر سولفات آهن و روی" مجله فرایند و کارکرد گیاهی، ۵(۱۷): ۴۱-۵۲.

فتحی ع. ر. زاهدی م. (۱۳۹۳) "تأثیر محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید آهن و روی بر رشد و محتوای یونی دو ژنوتیپ ذرت (*Zea mays*) در شوری های متفاوت خاک" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۲(۱): ۱۱۰-۱۱۷.

فلاحی ج. کوچکی ع. و رضوانی مقدم پ. (۱۳۸۸) "بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی" مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۷: ۱۲۷-۱۳۵.

فیضی اصل و. فتوت ا. آستارایی ع. و، و لکزیان، ا. (۱۳۹۳) "تأثیر مقادیر و زمان مصرف نیتروژن بر برخی ویژگی‌های ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گندم دیم" نشریه زراعت دیم ایران، ۳(۱): ۴۱-۵۹.

قانع‌پسند ف. و حاج سید هادی م. ر. (۱۳۹۵) "تأثیر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و کود دامی بر عملکرد دانه و اسانس گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)" مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۲(۴): ۷۱۶-۷۲۷.

قلی‌نژاد ا. (۱۳۹۶) "تأثیر دو گونه قارچ میکوریزا بر عملکرد کمی و کیفی دانه تودههای محلی کنجد (*Sesamum indicum* L.) در سطوح مختلف تنش خشکی" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۵(۱): ۱۵۰-۱۶۷.

قلی‌نژاد ا. و درویش‌زاده ر. (۱۳۹۴) "اثر قارچ میکوریزا بر عملکرد و اجزای عملکرد توده‌های محلی کنجد (*Sesamum indicum* L.) در سطوح مختلف آبیاری" نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۳۵(۳): ۱۱۹-۱۳۵

کافی لاهوتی م. زند ا. شریفی ح ر. و گلدانی م. (۱۳۸۳) "فیزیولوژی گیاهی( ترجمه ) "انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد .۴۵۶ صفحه.

کریمی‌فرد ش. غلامی ا. و قلی‌پور م. (۱۳۹۶) "تعیین خصوصیات رشدی و کیفی گیاه دارویی سیاهدانه تحت تأثیر همزیستی با قارچ میکوریزا و امواج فراصوت" تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۳(۵): ۷۵۳-۷۴۱.

کوچکی ع ر. شباهنگ ج. خرم‌دل س و نجفی ف. (۱۳۹۴) "بررسی اثر تلقیح با میکوریزا و حجم‌های آبیاری بر عملکرد، اجزای عملکرد و اسانس دو گونه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) و زنیان (*Trachyspermum ammi* L.)" نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۷(۱): ۲۰-۳۷.

کوچکی ع. و بنائیان م، (۱۳۴۱)، "فیزیولوژی عملکرد گیاهان زراعی" انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۳۸۰ صفحه.

کیخا غ. فنایی ح. ر. پل شکن م. ر. و اکبری ع. (۱۳۸۴) "بررسی اثرات محلول‌پاشی عناصر روی، بور و آهن بر عملکرد کمی و کیفی کلزا" نهمین کنگره علوم خاک ایران. تهران. ۱۴۹-۱۵۳

گلشاهی ص. غلامعلی‌زاده آهنگر ا. میر ن. و قربانی م. (۱۳۹۶) "تأثیر محلول‌پاشی منابع آهن بر پارامتر-های رشد، غلظت آهن و فعالیت برخی آنزیم‌های گیاه سورگوم" نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، ۳۱(۵): ۱۴۶۷-۱۴۸۰.

لایق حقیقی م. حسن‌پور اصیل م. و عباس‌زاده ب. (۱۳۹۵) "تأثیر نانو کلات آهن بر کمیت و کیفیت اسانس گل محمدی (*Rosa damascene Mill.*)" تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۲(۱): ۱۳۸-۱۴۷.

لیلاسی مرند م. و ساریخانی م. ر. (۱۳۹۷) "تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد، هدایت روزنه‌ای و شاخص کلروفیل ذرت در شرایط کمبود پتاسیم" نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، ۳۲(۳): ۵۵۹-۵۷۲.

متقیان آ. پیر دشتی ه. بهمنیار م. ع. و عباسیان ا. (۱۳۸۹) "تأثیر نوع و مقدار کود آلی بر عملکرد دانه و غلظت عناصر غذایی برگ سه رقم سویا (*Glycine max* (L.) Merr)" مجله تحقیقات آب و خاک ایران، ۴۱(۱): ۱۹-۲۶.

محمدی م. مجنون حسینی ن. و دشتکی م. (۱۳۹۵) "تأثیر نانواکسید آهن و سولفات روی بر میزان کلروفیل، آنتوسیانین، فلاونوئید و عناصر معدنی برگ نعناع فلفلی در شرایط آب و هوایی کرج (*Mentha piperita* L.)" فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲(۵): ۷۷۰-۷۸۳

محمودزاده، م. رسولی صدقیانی م. ح. و عسگری لجایر ح. (۱۳۹۴) "تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا بر خصوصیات ریخت‌شناسی و غلظت عناصر پُرمصرف گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط گلخانه" علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۶(۲۴): ۱۵۵-۱۶۷.

محمودزاده، م. رسولی صدقیانی م. ح. و عسگری لجایر ح. (۱۳۹۵) "تأثیر تلقیح باکتریهای ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچهای میکوریز آربوسکولار بر جذب عناصر غذایی و برخی فاکتورهای مورفولوژیکی در نعناع فلفلی" نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۶(۱): ۱۶۱-۱۷۶.

محمودی پ. یارنیا م. رشیدی و. امیرنیا ر. و تاری‌نژاد ع. (۱۳۹۷) "تأثیر نوع و روش کاربرد کودهای نانو و شیمیایی بر عملکرد دانه و اسانس گل گاوزیان اروپایی (*Borago officinalis* L.)" نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱۳(۵۱): ۹۵-۱۰۷.

محمودی س. پارسا مطلق ب. زهان م. و نقی‌زاده م. (۱۳۹۰) "تأثیر قارچ میکوریزا و کود فسفر بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر غذایی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) در شرایط شوری" بوم‌شناسی کشاورزی، ۳(۲): ۲۳۳-۲۴۴.

محمودی ش. و حکیمیان م، (۱۳۷۹) "مبانی خاکشناسی (ترجمه)" انتشارات دانشگاه تهران. ۷۰۶ صفحه.

محمودی م. فهیمی ح. خوشرو م. (۱۳۸۲) "بررسی اثر تغذیه فسفری و قارچ میکوریزی وزیکوالر – آرباسکوالر بر روی رشد و جذب عناصر P و N در پسته (*Pistacia vera* L.)" پژوهش و سازندگی، ۱۸(۲): ۸۲-۸۶.

مظاهرینیا س. آستارایی ع. منشی ا و فتوت ا. (۱۳۹۱) "مقایسه اثر اکسیدهای آهن (نانو و معمولی) همراه با کمپوست زباله شهری بر تغذیه گیاه گندم" نشریه زراعت، ۹۶: ۹۶۰-۹۷۷.

معصومی زواریان ا. یوسفی‌راد م. و اصغری م. (۱۳۹۴) "بررسی اثرات قارچ میکوریزا بر روی خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی انیسون (*Pimpinella anisum*) تحت تنش شوری" فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۴(۱۴): ۱۳۹-۱۴۸.

مقدم ا. محمودی سروستانی م. فرخیان فیروزی ا. رمضانی ز. و اسکندری ف. (۱۳۹۴) "تأثیر محلول‌پاشی کالت آهن و نانو کلات آهن بر صفات مورفولوژیکی و میزان اسانس ریحان مقدس ( *Ocimum sanctum*)" مجله به زراعی کشاورزی، ۱۷(۳): ۵۹۵-۶۰۶..

ملکوتی م. ج. و سپهر ا. (۱۳۸۳) " تغذیه بهینه دانه‌های روغنی گامی موثر در نیل به خودکفایی روغن در کشور" نشریه خانیران تهران. ۴۶۴ صفحه.

ملکوتی م. ج. و طهرانی م. م. (۱۳۸۴) "نقش ریزمغذی‌ها در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی (عناصر خرد با تأثیر کلان)" انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. ۳۹۸ صفحه.

ملکوتی م. ج، (۱۳۷۹)" نقش ریز مغذی‌ها در افزایش تولیدات کشاورزی در ایران" نشریه نشر آموزش کشاورزی، ۷۰: ۱۲۳-۱۴۴.

مهربان پ. و عبدلزاده ا. (۱۳۹۱) "اثرات بیشبود آهن در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها در گیاه برنج رقم شفق" مجله پژوهش‌های تولید گیاهی، ۱۹(۱): ۱۰۶-۸۵.

میر ز. مهدی دهمرده م. جمشید پیری ج. خمری ع، (۱۳۹۶) "تعیین سطوح بهینه کودهای زیستی و محلول‌پاشی آهن بر عملکرد کمی و برخی ویژگیهای کیفی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)" نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۹(۴): ۱۱۹۴-۱۲۰۷.

نادری م .ر. دانش شهرکی ع. (۱۳۹۰) "کاربرد فناوری نانو در بهینه سازی فرمومسیون کودهای شیمیایی" ماهنامه فناوری نانو، ۱۰(۴): ۱۰-۲۴.

ناصری ر. براری م. زارع م. ج. خاوازی ک. و طهماسبی ز. (۱۳۹۶) "اثر باکتری‌های افزاینده رشد و قارچ میکوریزا بر رشد و عمکرد گندم در شرایط دیم" نشریه زیست شناسی خاک، ۵(۱): ۴۹-۶۷.

نصیری دهسرخی ع. قنبری ا. و ورناصری قندعلی و. (۱۳۹۷) "مطالعه تغذیه بزگی کالت آهن به فزمهای نانو و معمول بز عملکزد و اجشای عملکزد سیزه سبش (*Cuminum cyminum* L.) در شزایط تنش خشکی" نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۶(۱): ۳۲۹-۲۴۱.

نظرلی ح. و سید شریفی ر. (۱۳۹۲) "بررسی عملکرد کمی و کیفی و برخی خصوصیات زراعی آفتابگردان (*Helianthus annus* L.) در پاسخ به تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در سطوح مختلف نیتروژن" نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۵(۳): ۳۰۸-۳۱۷.

نوربخش ف. چالوی و. واکبرپور و، (۱۳۹۲) "تأثیر کودهای بیولوژیک بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی رزماری" اولین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، همدان، انجمن ارزیابان محیط زیست هگمتانه.

هاشمی فدکی س. ع. فاخری ب. ع. مهدی‌نژاد ن. و محمد پور وشوایی ر. (۱۳۹۷) "آثار کودهای نانو و نانوزیستی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد چای ترش (*Hibisicus sabdariffa* L.) تحت تنش خشکی" مجله به زراعی کشاورزی، ۲۰(۱): ۴۵-۶۶.

یادگاری ا. خمری ع. سالاری م. فخری ب. ا . رحیمی م. و بیدرنامنی ف. (۱۳۹۵) "تأثیر کودهای مختلف و تلفیق آنها بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی ماریتیغال (*Silybum marianum* L.)" فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۲(۶): ۱۰۱۰-۱۰۲۵.

یوسف‌زاده س. نقدی‌بادی ح. ع. صباغ‌نیا،ن. و جانمحمدی م. (۱۳۹۵) "تأثیر محلول‌پاشی نانوکلات آهن بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)" فصلنامه گیاهان دارویی. ۴(۶۰): ۱۵۲-۱۶۰.

Abd E I Hadi E. A. A. (1986) "Effect of foliar fertilization in different crops under Egyption conditions" Plant Soil Science, 22:126-141.

Abd El- Wahab A and Mohamed A. (2008) "Effect of some trace elements on growth, yield and chemical constituents of *Trachyspermum ammi* L. (Ajowan) plants under Sinai conditions" Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4(6): 717-724.

Abdel-fattah G. M. Migaher F. F and Ibrahim A. H. (2002) "Interactive effects of endomycorryhizal fungus *Glomus etunicatum* and phosphorus fertilization on growth and metabolic activities of broad bean plants under drought stress conditions" Pakistan Journal of Biological Sciences, 5: 835-841.

Abdul-Jaleel C. Manivannan P. Sankar B. Kishorekumar A. Gopi R. Somasundaram R and Panneerselvam R. (2007) "Pseudomonas flurescence enhance biomass yield and ajmalicine production in Catharanthus roseus under water deficit stress" Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60: 7-11.

Adams R. P. (1995) "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography /Mass

Ahiabor D. B and Hirata H. (1994) "Characteristic response of three tropical Legumes to the inoculation of two species of VAM Fungi in andosol soils with different fertilizers mycorrhizae functioning" Chapman and Hill Press, 6: 435-449.

Akanbi J. C and Owoade F. M (2008) "Mycorrhiza fungi Distribution in six different soil types of south western Nigeria" Journal of Agronomy, 2:52-55 .

Akbarian M. M. Heidari Sharifabad H. Noormohammadi G and Darvish Kojouri F. (2012) "The effect of potassium, zinc and iron foliar application on the production of saffron (*Crocus sativa*)" Annals of Biological Research, 3 (12):5651-5658.

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

Akiyama K. and Hayashi H. (2002) "Arbuscular mycorrhizal fungus promoted accumulation of two new triterpenoids in cucumber roots" Bioscience Biotechnology Biochemistry, 66:762–769.

Allen M. Moore J. T. S and Christensen M. (1982) "Phytohormone changes in Bouteloua gracilis infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: II. Altered levels of gibberellin like substances and abcsisic acid in the host plant" Canadian Journal of Botany, 60: 468 - 71 .

Almas Z and Saghir K. (2005) "Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of wheat" Canadian Journal of Microbiology, 28: 2079-2092.

Altaf A. Ishrat K and Abdin M. Z. (2000) "Effect of sulfur fertilization on oil accumulation, acetyl co-A concentration, and acetyl co-A carboxylase activity in the developing seeds of rapeseed (*Brassica compestris* L.)" Australian Journal of Agricultural Research, 51: 1023-1029.

Alvareza A. Sierra M. A and Lucena J. J. (2002) "Reactivity on synthetic Fe chelates with soils and soil component" Plant soil, 241: 129-137.

Amerian M. R. Stewart W. S and Griffits H. (2001) "Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth assimilation and leaf water relation in maize" Aspect of Applied Biology, 63: 73-76.

Anandham R. Sridar R. Nalayini P. Poonguzhali S. Madhaiyan M and Tongmin S. A. (2007) "Potential for plant growth promotion in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cv. ALR-2 by co-inoculation of sulfur-oxidizing bacteria and Rhizobium" Microbiological Research, 162: 139-153.

Ardakani M. R. Mazaheri D. Shirani Rad A. H and Mafakheri S. (2011) "Uptake of micronutrients by wheat (*Triticum aestivum* L.) in a sustainable agroecosystem" Middle-East Journal of Scientific Research, 7 (4): 444-451.

Arnon A. N. (1967) "Method of extraction of chlorophyll in the plants" Agronomy Journal, 23:112-121.

Arriagada C. A. Herrera M. A and Ocampo J. A. (2007) "Beneficial effect of saprobe and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of Eucalyptus globules co-cultured with *Glycine max* in soil contaminated with heavy metals" Journal of Environmental Management, 84: 93-99.

Ashrafuzzaman M. Akhtar H. F. Razi M. I. Anamul M. D. H. Zahurul M. I. Shahidullah S. M and Sariah M. (2009) "Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth" African Journal of Biotechnology, 8(7): 1247-1252.

Azcon G. Aguilar C. Azcón R and Barea J. M. (1979) "Endomycorrhizal fungi and *Rhizobium* as biological fertilisers for Medicago sativa in normal cuntivation" Natureresearch Journal, 279: 325-236.

Bagheri S. Ebrahimi M. A. Davazdah emami S and Minooyi Moghadam J. (2014) "Terpenoids and phenolic compounds production of mint genotypes in response to mycorrhizal bio-elicitors" Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 4(4): 339-348.

Bago B. Pfeffer P and Shachar-Hill Y. (2001) "Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbuscular mycorrhizal symbiosis?" New Phytolologist. 149: 4-8.

Banchio E. P. Bogino C. Zygadlo M. J and Giordano W. (2008) "Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Organum majorana* L." Biochemical Systematics and Ecology, 36:766-771.

Bannister J. V. Bannister W. H and Rotills G. (2008) "Aspects of the structure, function and application of superoxide dismutase" CRC Critical Reviews in Biochemistry, 22:111-180.

Barea J. M. and Jeffries P. (1995) "Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. In: Mycorrhiza structure, function, molecular biology and biotechnology (eds. Varma, A., Hock, B.)" Springer-Verlag, Berlin, 521-559

Baset M. A and Shamsuddin Z. H. (2010) "Rhizobium as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production" African Journal of Biotechnology, 9(37): 6001-6009

Baset Mia M. A. Shamsuddin Z. H and Maziah. M. (2010) "Use of plant growth promoting bacteria in banana: A newInsight for sustainable banana production" International Journal of Agriculture & Biology, 12(3):459-467.

Bashan Y and Dubrovsky J. G. (1996) "Azospirillum spp. participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level" Biology and Fertility of soils, 22:435-440

Basu M and Srivastava N. K. (1998) "Root endophytesin medicinal plants: their population and effects" Abstract of The 7th International Congress of PlantPathology, Edinburgh, Scotland, 9-16 August: 19.

Bates T. R and Lynch J. P. (2000) "The efficiency of Arabidopsis thaliana root haie in phosphorus acquisition" American Journal of Botany, 87(7): 964–970.

Becker M and Asch F. (2004) "Iron toxicity in rice- condition and management concepts" journal of plant nutrition and soil science, 168:558-573.

Beregmann W. (1992)" Nutritional Disorders of Plants". Development, visual and analytical diagnosis. Gustav Fischer.Verlag Jena. Stuttgard. New York.

Bhanavase D. B. Jadhar B. K. Kshirasager C. R and Patil P. L. (1995) "Studies on chlorophyll, nodulation, nitrogen fixation, soybean yield and their correlationas influenced by micronutrient" Madras Agricultural Journal, 81: 325-328

Bhattari T and Hess D. (1993) "Yeild response of Nepalese spring wheat (T. aestivum) cultivars to inoculation with Azospirillum spp. of Nepalese origin" Plant and Soil, 151: 67-76.

Biari A. Gholami A and Rahmani H. A. (2008) "Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of Iran" Journal of Biological Sciences, 8: 1015-1020

Bienfait H. F and Scheffers M. R. (1992) "Some properties of ferric citrate relevant to the iron nutrition of plants" Plant and Soil, 143: 141-144.

Biswas P. P and Sharma S. P. (2008) "Nutrient management – challenges and options" Journal of the Indian Society of Soil Science, 56:22–25.

Bodgom P. M. V. Broekman R. Dijk J. V. Bakker C and Aerts R. (2005) "Ferrous iron stimulates phenol oxidase activity and organic matter decomposition in waterlogged wetlands" Biogeochem, 76: 69–83.

Bystrzejewska-Piotrowska G. Asztemborska M. Steborowski R. Polkowska- Motrenko H. Danko B and Ryniewicz J. (2012) "Application of neutron activaton for investigation of Fe3O4 nanoparticles accumulation by plants" Nukleonika, 57 (3): 427–430.

Cakmakci R. Erat M. Erdog U and Donmez M. F. (2007) "The influence of plant growth–promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants" Journal Plant Nutrition Soil Sciences, 170: 288–295.

Caris C. Hordt W. Hawkins H. J. Romhel V and Eckhard G. (1998) "Studies of iron transport by arbuscular mycorrhiza hyphe from soil to peanut and sorghum plants" Mycorrhiza, 8: 35-39.

Carpita N. Sabulase D. Montezinos D and Delmer D. P. (1979) "Determination of the pore size of cell walls of living plant cells" Plant Science Physiology, 205:144–147.

Celik I. Ortas I and Kilic S. (2004) "Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoxerert soil" Soil and Tillage Research, 78(1): 59-67.

Chabot R. Antoun H and Cescas M. P. (1993) "Stimulation of the growth of maize and lettuce by inorganic phosphorus- solublizing microorganisms" Canadian Journal of Microbiology, 39: 941-947.

Chahal A. S. Madgulkar A. R. Kshirsagar S. J. Bhalekar M. R. Dikpati A and Gawli P. (2012) "Amorphous nanoparticles for solubility enhancement. Journal of Advanced Pharmaceutical" Science, 2:167–178.

Chapman H. D and Pratt P. F. (1961) "Method of analysis for soils,plants and waters" University of California.Division of agricultureal Sciences.

Chaudhary V. Kapoor R and Bhatnagar A. K. (2007) "Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L" Mycorrhiza, 17: 581-587.

Chen Y. Mei R. Lu S. Liu L and Kloepper J. W. (1994) "The use of a yield increasing bacteria as PGPR in Chinese agriculture. In management of soil borne diseases (U.K. Gupta and R. Uthede, eds.)" Narosa Publishing House, New Delhi, India.

Cheng Z. Park E and Glick B. R. (2007) "1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase from Pseudomonas putida UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt" Canadian Journal of Microbiology, 53(7):912- 918.

Cliquet j. b and Stewart G. R. (1993) "Ammonia assimilation in *Zea mays* L. infected with a vesicular arbuscular mycorrizal fungus Glomus fasc iculation" Plant physiology, 101: 865-871

Clive L. Sze-Chung S and Nicholson R. (1998) "Reduction of light induced anthocyanin accumulation in inoculated sorghum mesocotyls implication for a compensatory role in the defense" Plant Physiology, 116: 979-989.

Cooper K. M and Tinker P. B. (1978) "Translocation and transfer of nutrients in vesicular arbuscular mycorrhizas" New Phytologist, 81: 43-52

Copetta A. Lingua G and Berta G. (2006) "Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese" Mycorrhiza, 16: 485-494.

Das A. K. Sadhu M. K and Som M. G. (1991) "Effect of N and P levels on growth and yield of black cumin" Horticultural Journal. 4: 41-47 .

Davies J. R. Olalde-Portugal L. Agvilera-Gomez M. J. Alvarao R. C. Ferrera-cerrato T and Boutton, W. (2002) "Alleviation of drought stress of chile ancho pepper (*Capsicum annuum* L CV Sanluis) with Arbuscular mycorrhiza indi gennus to Mexico" Scientia Horticulturoe, 92: 342-359

Delfani M. Firouzabadi M. B. Farrokhi N and Makarian H. (2014) "Some physiological responses of black-eyed pea to iron and magnesium nanofertilizers" Communications in Soil Science and Plant Analysis, 45: 530–540.

Derosa M. C. Monreal C. Schnitzer M. Walsh R and Sultan Y. (2010) "Nanotechnology in fertilizers" Nature Nanotechnology, 5:91.

Devi M. C and Reddy M. N. (2002) "Phenolic acid metabolism of ground nut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and Rhizobium" Plant Growth Regulation. 37:151–156.

Dubey V. S. Bhalla R and Lithra R. (2003) "Sucrose mobilization in relation to essential oil biogenesis during palmarosa (Cymbopogon martini Roxb. Wats. var. motia) inflorescence development" Boisciences, 28(4): 479-487.

Duke J. A. (1982) " Ecosystematic data on medicinal plants" Councilscience and industry research, JamTawi, 877p.

Duponnois R. Colombet A. Hien V and Thioulouse J. (2005) "The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of Acacia holosericea" Soil Biology and Biochemectry, 37:1460-1468 .

Ebrahimian E and Bybordi A. (2011) "Effect of iron foliar fertilization on growth seed and oil yield of sunflower grown under different irrigation regimes" Middle East Journal of Scientific Research, 9(5): 621-627.

Eghball B. (2002) "Soil properties as influenced by phosphorus- and nitrogen-based manure and compost applications" Agronomy Journal, 94: 128–135.

Eichert T. and Goldbach H. E. (2008) "Equivalent pore radii of hydrophilic foliar uptake routes in stomatous and astomatous leaf surfaces – further evidence for a stomatal pathway" Plant

El Dakhakhny M. Barakat M. Abd El Halim M and Aly S. M. (2000) "Effect of Nigella sativa oil on gastri secretion and ethanol induced ulcer in rats" Journal of Ethnopharmacol,72: 299-304.

El-Fouly M. M. Mobarak Z. M and Salama Z. A. (2011) "Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L" African Journal of Plant Science, 5: 314-322.

El-Ghadbane E. A. E. Shalan M. N and Abdel-Latife T. A.T. (2006) "Influence of biofertilizers on growth, volatile oil yield and constituents of fennel (*Foeniculum vulgar Mill*.)" Egyptian Journal of Agricultural Research, 84(3): 977-992.

El-Sayed K. A. Ross S. A. El-Sohly M. A. Khalafalla M. M. Abdel-Halim O. B and Ikegami, F. (2000) "Effects of different levels of fertilizers on the amino acid, fatty acid and essential oil composition of *Nigella sativa* seeds" Saudi Pharmaceutical Journal, 8(4): 175-182.

El-Yazeid A. A. Abou-Aly H. E. Mady M. A and Moussa S. A. M. (2007) "Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate dissolving microorganisms (bio phosphor) combined with boron foliar spray" Research Journal Agriculture Biology Science, 3(4): 274-286.

Eshghizadeh H. R. Kafi M. Nazami A and Khoshgoftarmanesh A. H. (2012) "Studies on the role of root morphology attribution in salt tolerance of blue-pani grass (*Panicum antidotale Retz*.) using artificial neural networks (ANN)" Research on Crops, 13 (2): 534-544.

Esitken A. Yildiz H. E. Ercisli S. Donmez M. F. Turan M.\ and Gunes A. (2010) "Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry" Scientia Horticulturae, 124: 62-66

Evans W. C. (1996) "Pharmacognosy" 14th Edition. Chapter 21. Volatile Oils and Resins. John Wiley, New York. 450 pp

Faber B. A. Zasoski R. J. Mjnns D. N and Schakel K. (1991) "A method for measuring hyphal uptake in mycorrhizal plants" Candian.Journal. Botany, 69: 87-94.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2009) How to feed the world in 2050. Proceedings of the Expert Meeting on How to Feed the World in 2050. 24–26 June 2009. FAO Headquarters, Rome.

Fatma E. M. El-Zamik I. Tomader T. El-Hadidy H. I. Abd El-Fattah L and Seham Salem H. (2006) Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous" Agriculture Microbiology Deptartment Faculty of Agriculture. Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt

Feil B. Moser S. B. Jampatong S and Stamp P. (2005) "Mineral composition of the grains of tropical maize varieties as affected by preanthesis drought and rate of nitrogen fertilization" Crop Science, 45:516–523.

Feng G. Zhang F. S. Li X. L. Tian C. Y and Tang C. (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.

Fleischer A. O. Neill M. A and Ehwald R. (1999) "The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II" Plant physiology, 121: 829–838.

Flores E. Frias J. M and Herrero A. (2005) "Photosynthetic nitrate assimilation in cyanobacteria" Photosynthesis Research, 83: 117-133.

Frankenberger W. T and Arshad M. (1995) "Phytohormones in Soils: Microbial Production and Function" Marcel Dekker, New York, pp:503.

Frietas J and Germida J. J. (1990) "Plant growth promoting rhizobacteria for winter wheat. Canadian" Journal of Microbiology, 36:265-272.

Fuentes-Ramirez L. E and Caballero-Mellado J. (2005) "Bacterial biofertilizers. Pp: 143–172. In: Z.A. Siddiqui (ed). PGPR: Biocontrol and Biofertilization" Springer, Netherlands.

Fulchieri M and Frioni L. (1994) "Azospirillum inoculation on maize (Zea mays L.): Effect on yield in a field experiment in central *Argentina*" Soil Biology and Biochemistry, 26: 921-923.

Ghafariyan M. H. Malakouti M. J. Dadpour M. R. Stroeve P and Mahmoudi M. (2013) "Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll" Environmental Science and Technology, 47(18): 10645–10652.

Gholami A. Shahsavani S and Nezarat S. (2009) "The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize" World Academy of Science, Engineering and Technology, 49: 19-24.

Ghorbanpour M and Hatami M. (2015) "Changes in growth, antioxidant defense system and major essential oils constituents of Pelargonium graveolens plant exposed to nano-scale silver and thidiazuron" Indian Journal of Plant Physiology, 20 (2): 116 - 23.

Ghorbanpour M. (2015) "Major essential oil constituents, total phenolics and flavonoids content and antioxidant activity of Salvia officinalis plant in response to nano-titanium dioxide" Indian Journal of Plant Physiology, 20 (3): 249 – 56

Ghosh P.K. Ajay K. K. Bandyopadhyay M. C. Manna K. G. Mandal A. K and Hati K. M. (2004) "Comprative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping system in vertisols of semi-arid tropics Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity" Bioresource Technology, 95: 85-93.

Giri B. Kapoor R and Mukerji K. G. (2002) "VA mycorrhizal techniques/VAM technology in establishment of plants under salinity stress condition" In: Mukerji, K.G., Manoracheir, C., and Singh, J. (eds) Techniques in mycorrhizal stueies Kluwer, Dordrecht. Pp. 313-327.

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

Graham R. D and Welch R. M. (2000) "Plant food micronutrient composition and human nutrition. Commun" Soil Science Plant Analysis, 31: 1627-1640.

Gray E. J and Smith D. L. (2005) "Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes" Soil Biology and Biochemistry, 37:395-412.

Gulen Y. (1995) "The effect of sown dates and nitrogenous fertilizer on yield and some agricultural characters of coriander" Ondokuz univ .Institue of natural and applie science department .Turkey

Gutierrez-Manero F. J. Ramos-Solano B. Probanza A. Mehouachi J. Tadeo F. R. and Talon M. (2001) "The plant- growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins" Plant Physiolology, 111: 206-211.

Hamdia M. A. Shaddad M. A. K and Doaa M. M. (2004) "Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions" Plant Growth Regulators, 44: 165– 174.

Hamel C. A and Smith D. L. (1991) "Interspecific N- transfer and plant development in a mycorrhiza field- grown moisture" soil Biology and Biochemistry, 23:661-665.

Han,H. S and.Lee K. D. (2005) "Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity" Journal of Agricultural and Biological Science, 6: 155- 180.

Harris D and Paul E A. (1987) "Carbon Requirements of Vesicular-Arbuscular, Mycorrhizae" 93-103. In: Safir G. E. (Ed.). Ecophysiology of VA Mycorriza Plants. CRC Press, Boca Raton, USA, 224.

Harsinia M. G. Habibib H and Talaei G. H. (2014) "Study the effects of iron nano chelated fertilizers foliar application on yield and yield components of new line of wheat cold region of kermanshah provence" Agricultural Advances, 3(4): 95-102

Hayman D. S. (1983) "The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhiza symbiosis" Canadian Journal of Botany, 61: 944-963.

Hernandez A. N. Hernandez A and. Heydrich M. (1995). "Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation" Cultivos Tropicales, 6: 5-8.

Hodge A. Campbell C. D and Fitter A. H. (2002) "An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material" Natureresearch Journal, 413 (6853): 297-299.

Huffman M. A. (2003) "Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants" Proceedings of the Nutrition Society, 62: 371 – 381.

Husssain M. B. Mehboob I. Zahir Z. A. Naveed M and Asghar H. N. (2009) "Potential of Rhizobium spp. for improving growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.)" Journal of Soil & Environment, 28(1): 49-55.

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

Ilyas N. and Baho A. (2010) "*Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions" Biology of Fertilizer and Soils, 46: 393-406.

Ishikawa T. Takeda T. Shigeoka S. Hirayama O and Mitsunaga T. (1993) "Requirement for iron and its effect on ascorbate peroxidase in Euglena gracilis" Plant Sciences, 93: 25–29.

James B. Rodel D. Lorettue U. Reynaldo E and Tariq H. (2008) "Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of Senna spectabilis" Pakistan Journal of Botany, 40: 2217- 2224.

Javadimoghadam A. Ladan Moghadam A. Danaee E. (2015) "Response of Growthand Yield of Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) to Different Foliar Applications of Nano- Iron and Zinc" International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 9 (9): 1477-1478.

Jeffries P and Barea J. M. (2001) "Arbuscular mycorrhiza—a key component of sustainable plant–soil ecosystems" Fungal Associations, 9: 95–113.

Jokar L. Ronaghi L. Karimian A. M and Ghasemi Fasaei R. (2015) "Effect of different levels of iron and nitrogen fertilizers and iron sequesters on growth and concentration of certain nutrients of bean beans in a calcareous soil" Journal of Greenhouse Crop Science and Technology, 6 (22): 9-18

Joshee N. Mentreddy S. R and Yadav K. (2007) "Mycorrhizal fungi and growth and development of micropropagated Scutellaria integrifolia plants" Industrial Crops and Products, 25: 169–177.

Kader M. A. Main M. H and Hoque M. S. (2002) " Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by whea" Journal of Biological Science, 2: 259-261 .

Kalinova J and Vrchotova N. (2011) "The influence of organic and conventional crop management, variety and year on the yield and flavonoid level in common buckwheat groats" Food Chemistry, 127: 602 - 8.

Kampfenkel K and Montagu V. (1995) "Effects of iron excess on Nicotiana Plumbaginifolia plants (implications to oxidative stress)" Plant Physiology, 107:725-735.

Kant S. S and Kafkafi U. (2005) "Impact of mineral dificienty stress" PO BOX.12 Rehprot 76100.Israel

Kapoor R. Giri B and Mukerji K. G. (2002a) "Glomus macrocarpum: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (Anethum graveolens L.) and carum (*Trachyspermum ammi Sprague*)" World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 459-463 .

Kapoor R. Giri B and Mukerji K. G. (2002b) "Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum*) to enhance the concentration and quality of essential oil" Journal of the Science of Food and Agriculture, 82: 339-342.

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" Technology, 93: 307-311.

Kar M and Mishra D. (1976) "Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence" Plant Physiology, 57: 315-319.

Karimi M. M and Siddique K. H. M. (1991) "Crop growth and relative growth rates of old and modern wheat cultivars" Australian Journal of Agriculture Research, 42:13-20.

Karlidag H. Esitken A. Yildirim E. Figen-Donmez M and Turan M. (2011) "Effects of plant growth promoting bacteria on yield, growth, leaf water content, membrane permeability and ionic composition of strawbwrry under saline conditions" Journal of Plant Nutrition, 34:34–45.

Kaymak H. C. Yarali F. Guvence I and Donmeze M. F. (2008) "The effect of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Mentha piperita* L.) cuttings"African Journal of Biotchnology, 7(24): 4479- 4483

Khalil M. Y. (2006) "How-far would Plantago afra L. respond to bio and organic manures amendements" Research Journal of Biological Sciences, 2(1): 12-21.

Khaliq A. and Janardhanan K. K. (1997) "Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on the productivity of cultivated mints" Journal of Medicinal and Aromatic Plant Scince, 19:7-10 .

Khalvati M. A. Mozafar A and Schmidhalter U. (2005) "Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress" Plant Biology Stuttgart Journal, 7(6): 706-712.

Kohler J. Antonio Hernandes J. Caravaca F and Roldan A. (2009) "Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress" Environmental and Experimental Botany, 65: 245-252.

Kokalis-Buerelle N. Kloepper J. W and Reddy M. S (2006) "Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their affects on indigenous rhizosphere microorganisms" Journal of Applied Soil Ecology, 31: 91-100.

Kokalis-Buerelle N. Kloepper J. W and Reddy M. S. (2006) "Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their affects on indigenous rhizosphere microorganisms" Journal of Applied Soil Ecology, 31: 91-100.

Krizek D. T. Britz S. J and Mirecki R. M. (1998) "Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce" Physiologia Plantarum, 103: 1-7.

Krizek D.T. Britz S. J and Mirecki R. M. (1998) "Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce" Physiology Plantarum, 103: 1- 7.

Kumar V. Behl R. K and Narula N. (2001) "Establishment of phosphate solubilizing strains of Azotobacter chroococcum in rhizosphere and their effect on wheat under green house conditions" Microbology Research, 156: 87–93.

Kuo M. C and Kao C. H. (2004) "Antioxidant enzyme activities are up regulated in response to cadmium in sensitive, but not in tolerant, rice (Oryza sativa L.) seedlings" Botanical Bulletin- Academia Sinica Taipei, 45: 291-299.

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.

Laspina N. V. Groppa M. D. Tomaro M. L and Benavides M. P. (2005) "Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress" Plant Science, 169: 323-330.

Leilah A. A. Badawi M. A. EL-Moursy S. A and Attia A. N. (1988) "Response of soybean plants to foliar application of zinc and different levels of nitrogen" Journal of Agricultural Science, 13: 556-563.

Leithy S. El-Meseiry T. A and Abdallah E. F. (2006) "Effect of biofertilizer, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil quality" Journal of Applied Sciences Research, 2: 773-779

Leng P. Itamura H. Yamamura H. H and Deng X. (2000) "Anthocyanin accumulation in apple and peach shoots during cold acclimation" Scientia Horticulturae, 83: 43 - 50.

Li h. yang X and luo A. (2001) "Ameliorating effect of potassium on iron toxicity in hybrid rice" Journal of Plant Nutrition, 1849-1860.

Lin Q. M. Rao Z. H. Sun Y. X. Yao J and Xing L. J. (2002) "Identification and practical application of silicate – dissolving bacteria" Agricultural Science in China, 1: 81-85.

Lin W. Okon Y and Hardy R. (1983) "Enhanced mineral uptake by Zea mays and Sorghum bicolor roots inoculated with Azospirillum brasilense" Applied and Environmental Microbiology, 45: 1775-1779

Liu J. Wu L. wei L. Xiao X. Su C. Jiang P. Song Z. Wang T and Yu Z. (2007) "Effects of arbuscularmycorrhizal fungi on the growth, nutrient uptakeand glycyrrhizin production of licorice (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*)" Plant Growth Regul, 52: 29 - 39 .

Liu R and Lal R. (2015) "Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers fo rincreasing agronomic productions" Science of the Total Environment, 514: 131–139

Loomis W. D and Corteau R. (1990) "Essential oil biosynthesis" Recent Adv Phytochem, 6: 147 – 185. 28.

Louche-Tessandier D. Samson G. Hernandez-Sebastia C. Chagvar diff P and Desjardins Y. (1999) "Importantance of light and CO2 on the effects of endomycorrizal colonization on growth and photosynthesis of potato plantlets (*Solanum tuberosum*) in an invitro tripartite system" New Phytologyst, 142: 239-550.

Lucy M. Reed E and Glick B. R. (2004) "Applications of free living plant growthpromoting rhizobacteria" Antonie van Leewenhoek, 86: 1-25.

Mahaveer P. S and Alok A. (2002) "Enhanced growth and productivity following inoculation with indigenous AM fungi in four varieties of onion (*Allium cepa* L.) in an Alf soil" Biological Agriculture and Horticulture, 18: 1-14.

Mahfouz S. A and Sharaf-Eldin M. A. (2007) "Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (Foeniculum vulgare Mill.)" International Agrophysics, 21: 361-366

Maier W. Peipp H. Schmidt J. Wray V and Strack D. (1995) "Levels of a terpenoid glycoside (blumenin) and cell wall-bound phenolics in some cereal mycorrhizas" Plant Physiology. 109: 465-470.

Manoharan P. Pandi M. Shanmugaiah V. Gomathinayagam S and Balasubramanian N. (2008) "Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus on the physiology and biochemical changes of five different tree seedlings grown under nursery conditions" African journal of biotechnology, 7 (19): 3431-3436.

Manske G. G. B. Luttger A. B. Behl R. K and Vlek P. L. G. (1995) "Nutrient efficiency based on VA mycorrhiza (VAM) and total root length of wheat cultivars grown in India" Journal of Applied Botany, 69: 108-110.

Marius S. Octavita A. Eugen U and Vlad A. (2005) "Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus anuus* L.)" Genetica & Molecular Biology, 11-14.

Marschner H. (1995) "Mineral Nutrition of Higher Plants"2nd Academic Press. Ltd. London. 889 p.

Marschner H. Romheld V and Kissel M. (1986)"Different strategis in higher plantin mobilization and uptake of Iron" Journal of Plant Natrition, 9:695-713

Marulanda A. Porcel R. Barea J. M and Azcon R. (2007) "Drought tolerance and antioxidant activities in launder plants colonized by native drought-tolerant of drought-sensitive *Glomus* species" Microbial Ecology, 54: 543-552.

Mastronardi E. Tsae P. Zhang X. Monreal C and DeRosa M. C. (2015) "Strategic Role of Nanotechnology in Fertilizers: Potential and Limitations. Nanotechnologies in Food and Agriculture, 25-67 .

Matiru V. N and Dakora F. D. (2004) "Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops" African Journal of Biotechnology, 3 (1):1-7

Mayak S. Tirosh T and Glick B. R. (2004) "Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress" Plant Physiology and Biochemistry, 42:565-572.

Mayer A. M. (2006) "Polyphenol oxidase in plants and fungi: going place" Phytochem, 67: 2318-2331.

Meena V. S. Maurya B. R and Verma J. P. (2015) "Does a rhizospheric microorganism enhance $K^+$ availability in agricultural soils" Microbiological Research, 169: 337–347.

Mehboob I. Naveed M and Zahir A. Z. (2009) "Rhizobial association with non-legumes: mechanisms and applications" Critical Reviews in Plant Science, 28:432–456.

Mita S. Murano N. Akaike M and Nakamura K. (1997) "Mutants of Arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gene forbeta-amylase and on the accumulation of anthocyanin those are inducible bysugars" Plant Journal, 11:841-851.

Mita S. Murano N. Akaike M and Nakamura K. (1997) "Mutants of Arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin those are inducible by sugars" Plant Journal Physiology, 11: 841-851.

Mittler R. (2002) "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance" Trends Plant Science, 7: 405-410.

Moaveni P. (2014) "Study the priming of nano iron on biochemical traits of Sorghum (*Sorghum Bicolor* L.)" Data Management Association (DAMA) International, 3(2):102-108.

Mohsen K. H. E and Magda M. A. (2005) "Physiological response of wheat to foliar application of zinc and inoculation with some bacterial fertilizers" Journal of Plant Nutrition, 27: 1859- 1874.

Musavi S. R and Rezaei M. (2011) "Nanotechnology in Agriculture and Food production" Journal of applied and environmental microbiology, 1(10):414-419.

Muthukumar T. Senthilkuma M and Udaiyan K. (2006) "Arbuscular mycorrhizal morphology and dark septate fungal associations in medicinal and aromatic plant of western ghats, southern India" Mycorrhiza, 17(1):11-24 .

Nadeem S. M. Hussain I. Naveed M. Ashgar H. N. Zahir Z. A and Arshad M. (2006) "Performance of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase activity for improving growth of maize under salt-stressed conditions" Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 43:114-121.

Nadeem S. Zahir Z. A. Naveed M and Arshad M. (2007) "Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through ACC-deaminase activity" Canadian Journal of Microbiology, 53(10): 1141-1149.

Nadi E. Aynehband A and Mojaddam M. (2013) "Effect of nano-iron chelate fertilizer on grain yield, protein percent and chlorophyll content of Faba Bean (*Vicia faba* L.)" International Journal of Biosciences, 3(9): 267-272.

Nakano Y and Asada K. (1987) "Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate" Plant Cell physiology, 28: 131-140.

Nanda S. S. Swain K. C. Panda S. C. Mohanty A. K and Alim M. A. (1995) "Effect of nitrogen and biofertilizers in fodder rainfed upland conditions of *Orisa*" Current Agricultural Research, 8: 45-47

Narimani H. Rahimi M. M. Ahmadikhah A and Vaezi B. (2010)"Study on the effects of foliar spray of micronutrient on yield and yield components of durum wheat". Archives of Applied Science Research, 2(6): 168-176 .

Naseri R. and Mirzaei A. (2010) "Response of yield and yield components of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to seed inoculation with Azotobacter and Azospirillum and different nitrogen levels under dry land condition" American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 9 (4): 445-449.

Nieto K. F. and Frankenberger T. W. (1991) "Influence of adenine, isopenthyle alchole and (*Azotobacter chroococcum*) on the vegetative growth of Zea mays" Plant and Soil, 135: 213-221.

Norris I. R. Read D. J and Varma A. K. (1992) "Methods in Microbiology. Vol 24. Techniques for Study of Mycorrhiza" Academic press, London, pp 450.

Omar A. Ghosheh Abdulghani S. A. Houdi A and Crookscor P. A. (1999) "High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L)" Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,19: 757 – 62.

Pais I and Benton Jones J. R. (1997) "The Handbook of Track Elements". St Lucie Press.217 pp.

Pande P. Chand S. Pandey A and Patra D. D. (2011) "Effect of sole and conjoint application of iron and manganese on herb yield, nutrient uptake, oil quality via-a-ais their optimal level in spearmint (*Mentha spicata* Linn. Emend. Nathh.cv. Arka)" International Journal of Natural Product and Resources, 2(2): 242-249

Patil B. C. Hosamani R. M. Ajjappalavara P. S. Naik B. H. Smitha R. P and Ukkund K. C. (2008) "Effect of foliar application of micronutrients on growth and yield components of tomato (*Lycopersicon esculentum Mill*.)" Karnataka Journal of Agricultural Sciences, 21: 428-430.

Patten C. L and Glick B. R. (2002) "Role of Pseudomonas putida indoleacetic acid in the development of the host plant root system" Applied and Environmental Microbiology, 68: 3795– 3801.

Pereira G. J. G. Molina S. M. G. Lea P. J and Azevedo R. A. (2002) "Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in Crotalaria juncea" Plant and Soil, 239 (1): 123–132.

Perkin E. (1982) "Analytical methods for atomic absorbtion spectrophotometry

Pinior A. Grunewaldt-Stocker G. Von Alten H and Strasser R. J. (2005) "Mycorrhizal impact on drought stress tolerance of rose plants probed by chlorophyll a fluorescence, praline content and visual scoring" Mycorrhiza. 15(8): 596-605.

Pinto A. Mota M and Varennes A. (2005) "Influence of organic matter on the uptakc of zinc, copper and iron by Sorghum plants" Science Total Environment, 326: 239-247

Porcel R and Ruiz-Lozano J. M. (2004) "Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress" Journal of Experimental Botany, 55:1743–1750.

Posmyk M. M. Kontek R and Janas K. M. (2009) "Antioxidant Enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress" Ecotoxicology and Environmental Safety, 72 (2): 596 - 602.

Radtke K. Byrnes R. Kerrigan W. P. Antholine W. E and Petering D. H. (1992). "Requirement for endogenous iron cytotoxicity caused by hydrogen peroxide in Euglena gracilis" Marine Environmental Research, 34: 339– 343.

Rahimizadeh M. Kashani A. Zarefizabady A. Madani H and soltani E. (2010) "Effect of micronutrient fertilizers on sunflower growth and yield in drought stress condition" Electronic Journal of Crop Production, 3 (1), 57-79.

Rai S. N and Gaur A. S. (1998) "Characterization of Azotobacter spp. and effect of Azotobacter and Azospirillum as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop" Plant and Soil, 109: 131-134.

Raiesi F. and Ghollarata M. (2006) "Interactions between phosphorus availability and an AM fungus (*Glomus intraradices*) and their effects on soil microbial respiration, biomass and enzyme activities in a calcareous soil" Pedobiologia, 50:413–425 .

Ramesh A. Sharma S. K. Sharma M. P. Yadav N and Joshi O. P. (2014) "Plant growth-promoting traits in Enterobacter cloacae subsp. dissolvens MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation" Agricultural Research, 3(1):53-66.

Rana A. Saharan B. Nain L. Prasanna R and Shivay Y. S. (2012) "Enhancing micronutrient uptake and yield of wheat through bacterial PGPR consortia" Soil science and Plant Nutrition, 58(5): 573-582.

Ranjbar M and Shams G. A. (2009) "Using of nanotechnology" Journal Environment Green, 3: 29-34 .

Rapparini F. Bertazza G and Baraldi R. (1996) "Growth and carbohydrate status of Pyrus communis L. plantlets inoculated with *Glomus* sp" Agronomie, 16: 653–661.

Ratti N. Kuma R. S. Verma H. N and Gautams S. P. (2001) "Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to Cymbopogon martini by rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation" Microbiology Research, 156: 145-149.

Ravi S. Channal H. T. Hebsur N. S. Patil B. N and Dharmatti P. R. (2008)" Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.)" Karnataka Journal Agriculture Science, 21: 382-385

Renaut J. Lutts S. Hoffmann L and Hausman J. F. (2004) "Responses of poplar to chilling temperature: proteomics and physiological aspects "Plant Biology, 6: 81-90.

Reynolds G. H. (2002) "Forward to the future nanotechnology and regulatory policy" Harvard Journal of Law & Technology, 17(1):180-209

Rico C. M. Majumdar S. Duarte-Gardea M. Peralta-Videa J. R and Gardea- Torresdey J. L. (2011) "Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain" Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(8): 3485–3498.

Rigon L and Mignard E. (1994) "Factor of acidification of the rhizosphere of mycorrhiza plants: Measurement of P and $CO_2$ in the rhizosphere" Acta Botanica Gallica, 141: 533-539.

Rudresh D. L. Shivaprakash M. K and Prasad R. D. (2005) "Effect of combined application of rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and trichoderma spp. on growth, nutrient uptake and yield of Chickpea (*Cicer aritenium* L.)" Journal of Applied Soil Ecology, 28: 139-146.

Ruiz J. M. Baghour Mand Roomers L. (2000) "Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bioindicators" Journal of Plant Nutrition, 23(11-12): 1777-1786.

Ruiz-Lozano J. M. (2003) "Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies" Mycorrhiza, 13: 309-317.

Russo A. Felici C. Toffanin A. Collados C and Barea J. M. (2005) "Effect of Azospirillum inoculants on arbuscular mycorrhiza establishment in wheat and maize plants" Journal of Biology and Fertility of Soils, 41: 301–309.

Sailo G. L and Bagyaraj D. J. (2005) "Influence of different AM-fungi on the growth, nutrition and forskolin content of Coleus forskohlii" Mycological Research, 109: 795-798 .

Sakia S. P. Jain V. Khetarpal S and Aravid S. (2007) "Dinitrogen Fixation activity of Azospirillum brasilence in maize (*zea mays*)" current science, 93(9): 1296-1300

Samra A. Dumas E and Gianinazzi S. (1997) "Detection of symbiosos related polypeptides during the early stages of the establishment of arbuscular mycorrhiza between *Glomus mosseae*. and Pisum sativum roots" New Phytologist, 135. 711-722.

Sanches Govin E. Rodrigues Gonzales H. Carballo Guerra C and Milanés Figueredo M. (2005) "Influencia de los abonos organicos y biofertilizantes en la calidad de las especies medicinales *Calendula officinalis* L. and *Matricaria recutita* L" Revista Cubana de Plantas Medicinales, 10(1): 1-8 .

Sangale P. B. Palil G. D and Daftardar S. Y. (1981) "Effect of foliar application of zinc, iron and boron on yield of safflower" Journal of Moharashtra Agricultural University, 6: 65-66.

Serraj R. Krishnamurty L. Kashiwagi J. Kumar J. K. Chandra S and Crouch J. H. (2004) "Variation in root traits of chickpea (*Cicer aretinum* L.) grown under terminal drought" Field Crops Research, 88: 115-127.

Shaalan M. N. (2005) "Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants" Egyptian Journal of Agricultural Research, 83: 811-828.

Shady M. A. Ibrahim I and Afify A. H. (1984) "Mobilization of elements and their effects on certain plant growth characteristics as influenced by some silicate bacteria" Egyptian Journal of Botany, 27(1-7): 17-30.

Shakhawat H and Martensson A. (2007) "Potential use of Rhizobium spp. to improve growth of non-nitrogen fixing plants" Master's Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences,Department of Soil Sciences.

Sharma A. K. (2002) "Biofertilizers for Sustainable Agriulture. Agrobios, India.

Sharma P. K and Hall D. O. (1991) "Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum" Journal Plant Physiolology, 138 (5): 614 - 19.

Shigeoka S. Ishikawa T. Tamoi M. Miyagawa Y. Takeda T and Yabuta Y. (2002) "Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes" Journal of Experimental Botany, 53: 1305-1319.

Shockley F. W. McGraw R. L and Garrett H. E. (2004) "Growth and nutrient concentration of two native forage legumes inoculated with rhizobbium and mycorhiza in Missouri USA" Agroforestry Systems, 60:137-142 .

Shukla A and Farooqi A. H. (1990) "Utilization of plant growth regulators in aromatic plant production" Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 12: 152–157.

Singh S and Sinha S. (2005) "Accumulation of metals and its effects in (*Brassica juncea* L.) Czern. (cv. Rohini) grown on various amendments of tannery waste" Ecotoxicology and Environmental Safety, 62:118-127.

Smith S. E and Read D. J. (1997) "Mycorrhizal Symbiosis" Academic Press, San Diego, CA.

Soleimanzadeh H. Habibi D. M. Ardakani R. Paknejad F. and Rejali F. (2010) "Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) to inoculation with Azotobacter under different nitrogen levels" American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 7(3): 265-268.

Spectroscopy" Allured Publishing Co. IL.

Subramanian k. S and Charest C. (1998) "Nuutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasseling" Mycorrhiza, 7: 25-32.

Subramanian K. S. Manikandan A. Thirunavukkarasu M and Sharmila Rahale C. (2015) "Nano-fertilizers for Balanced Crop Nutrition" Nanotechnologies in Food and Agriculture, 69-80 .

Subramanian K. S. Santhanakrishnan P and Balasubramanian A. (2006) "of field grown tomato plant to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress" Scientia Horticulturae, 107:245-253 .

Sun B. Jing Y. Chen K. Song L. Chen F and Zhang L. (2007) "Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*)" Journal of Plant Physiology, 164, 536-543.

Sundara B. Natarajan V and Hari K. (2001) "Influence of phosphorus solubilizing bacteria on soil available P- status and sugarcane development on a tropical Vertisol" Field Crop Research, 24: 47-51.

Takrui H and Dameh M. (1998) "Study of the nutritional value of black cumin seed (*Nigella sativa* L.)" Journal of Sience of Food and Agriculture. 76: 404-410.

Tang C. Hinsinger P. Dervon J. J and Jaillard B. (2001) "Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances release in roots of (*Medicago truncatula* L.)" Journal Annals of Botany, 88: 131-138.

Tarraf W. Ruta C. Tagarelli A. De Cillis F and De Mastro G. (2017) "Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of *Salvia officinalis* L" Industrial Crops and Products, 102: 144-153

Tasang A and Maum M. A. (1999) "Mycorrhizal fungi increase salt tolerance of Strophostyles helvola in coastalforedunes" Plant Ecology, 144: 159–166 .

Thakur R. P and Rao V. P. (1997) "Variation in virulence and aggressiveness among pathotypes of Sclerospora graminicola on pearl millet" Indian Phytopathology, 50: 41-47

Tilak K. V. Ranganayaki K. K. Pal R. De A. K. Saxena C. Shekhar N. Shilpi Mittal A. K and Tripathi, B. N. (2006) "Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria" Current Science, 89, 136-150.

Tilak K.V. B. R. (1992) "Azospirillum brasilense and azotobacter chrooccocum inoculum effect of maize and sorghum" Soil Biologr and Biochemistry, 14: 417-418.

Tilak K.V. B. R. Ranganayaki N. Pal K. K. Saxena A. K. Shekhar Nautiyal C. Mittal S. Tripathi A. K and Johri B. N. (2005) "Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria" Current Science, 89: 136-150.

Tiryakioglu M. Eker S. Ozkutlu F. Husted S and Cakmak I. (2006) "Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance" journal of trace elements in medicine and biology, 20: 181-189.

Toussaint J. P. St-Arnaud M and Charest C. (2004) "Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices Schenck & Smith and Ri T-DNA roots of Daucus carota L. in an in vitro compartmented system" Canadian Journal of Microbiology, 50: 251-260.

Tripathi B. N. Mehta S. K. Amar A and Gaur J. P. (2006) "Oxidative stress in *scenedemus* sp. during short and long-term exposure to Cu and Zn" Chemosphere, 62: 538-544.

Turjaman M. Tamai Y and Santoso E. (2006) "Arbuscularmycorrhizal fungi increased early growth of two nontimber forest product species Dyera polyphylla and Aquilaria filarial under greenhouse conditions" Mycorrhiza, 16: 59 – 64

Van Loon L. C. (2007) "Plant responses to plant growth- promoting rhizobacteria" European Journal of Plant Pathology,119: 243-254.

Vande Broek A. (1999) "Auxins upregulate expression of the indol-3-pyruvate decarboxylase gene in Azospirillum brasilense" Journal of Bacteriology, 181: 1338-1342.

Vattani H. Keshavarz N and Baghaei N. (2012) "Effect of sprayed Soluble different levels of iron chelate Nano fertilizer on nutrient uptake efficiency in two varieties of spinach (Varamin88 and Virofly)" International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(4): 2651-2656.

Vessey F. (2003) "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers" Biomedical and Life Sciences Plant and Soil, 255 (2): 571-586

Vierheilig H. Coughlan A. P. Wyss U and Piche Y. )1998) "Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi" Applied and Environmental Microbiology, 64(12): 5004-5007.

Vierheilig H. Maier W. Wyss U. Samson J. Strack D and Piché Y. (2000) "Cyclohexenon e derivative and phosphate-levels in split- root systems and their role in the systemic suppression of mycorrhization in precolonized barley plants" Journal Plant Physiology, 157: 593 - 599.

Vital W. M. Teixeira N. T. Shigihara R and Dias A. F. M. (2002) "Organic manuring with pig biosolids with application of foliar biofertilizers in the cultivation of thyme (*Thymus vulgaris* L.)" Ecossistema, 27: 69-70.

Wagar A. Shahroona B. Zahir Z. A and Arshad M. (2004) "Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat" Pakistan Journal of Agriculture, 41: 119-124

Wahing I. W. Van V. J. G. Houba J and Vanderlee J. (1989) "Soil and plant analysis,a series of syllabi.part 7,plant analysis procedure" wageningen agriculture university.

Wang X. Tao L. Yu M. and Huang X. (2002) "Physiological characteristics of "super"hybrid rice variety" Chinese Journal of Rice Science, 16:38-44.

West H. (1991) "Soil phosphate status modifies response of mycorrhizal Senecio-Vulgaris L. to infection by the rust, Puccinia-Lagenoforae Cooke"New Phytologyst, 129: 107-116.

Whitty E. N and Chambliss C. (2005) "Fertilization of Field and Forage Crops" Nevada State University ZPublication. 21 pp.

Willekens H. Inzé D. Van Montagu M and Van Camp W. (1995) "Catalases in plants" Molecular Breeding, 1: 207–228.

Wiswanathan B. (2009) "Nanomaterials." Alpha science international limited. London. 250pP

Wright D. P. Scholes J. D and Read D. J. (1998) "Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis andbiomass production Development and Production" Plant, Cell and Environment, 21:209-216.

Wu Q. S and Xia R. X. (2006) "Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under-well-watered and water stress conditions" Journal of Plant Physiology, 163: 417- 425.

Wu S. C. Cao Z. H. Li Z. G. Cheung K. C and M. H. Wong. (2005) "Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial" Geoderma, 125(1-2):155-166.

Yao L. Wu Z. Zheng Y. Kaleem I and Li C. (2010) "Growth promotion and protection against salt stress by Pseudomonas putida Rs-198 on cotton" European Journal of Soil Biology, 46: 49- 54.

Yasari E. Patwardhan A. M. Ghole V. S. Ghasemi Chapi O and Asgarzadeh A. (2007) "Biofertilizers impact on canola (*Brassica napus* L.) seed yield and quality" asian journal of microbiology biotechnology & environmental sciences, 9(3): 701-707

Yehuda Z. Shenker M. Romheld V. Hadar Y and Chen Y. (1996) "The role of ligand exchange in the uptake of iron from microbial siderophores by gramineous plants" Plant Physiology, 112: 1273-128

Yeritsyan N and Economics C. (2002) "Effect of nutrient solution's iron concentration on growth and essential oil content of oregano plants growth in solution culture" Acta Horticulturae, 576: 277 - 83.

Youssef A. A. Edris A. E and Gomaa A. M. (2004) "A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L" Plant Annals of Agricultural Science, 49: 299-311.

Yu Y. Zhang S. Huang H. Luo L and Wen B. (2009) "Arsenic accumulation and speciation in maize as affected by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*" Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 3695–3701.

Zaharieva T. (1986) "Comparative studies of iron inefficient plant species with plant analysis" Journal of Plant Nutrition, 9: 939-946.

Zahir A. Z. Arshad M and Frankenberger W. F. (2004) "Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture" Advances in Agronomy, 81: 97-168.

Zaied K. Abd-EI-Hady A. H. Afify A. H and Nassef M. A. (2003) "Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculant of rhizobacteria" Pakistan Journal of Biological Science, 6: 344-358

Zambryski P. (2004) "Cell-to-cell transport of proteins and fluorescent tracers via plasmodesmata during plant development" Journal of Cell Biology, 162:165–168.

Zehtab-Salmasi S. Heidari F and Alyari H. (2008) "Effect of micronutrients and plant density on biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita* L.)" Plant Science Research, 1(1): 24-28.

Zeidan M. S. Mohamed M. F and Hamouda H. A. (2010) "Effect of foliar fertilization of Fe, Mn and Zn on wheat yield and quality in low sandy soils fertility" World Journal Agriculture Science, 6(6): 696-699.

Zhang M. Li Y. C and Stoffella P. J. (2003) "Nutrient availability in a tomato production system amended with compost" Journal of Acta Horticulture. 614: 787- 797.

**Abstract**

the present study was conducted to investigate the effect of foliar application of nano iron oxide particles and biofertilizers on the quantitative and qualitative properties of of black cumin. a pot experiment with factorial arrangement in randomized complete block design with three replications as a pottery and a farm in the was carried out in 2017 growing season at the Faculty of Agriculture, University of Shahrood. The experiment consisted of three foliar application of nano iron oxide levels control, 1.5 and 3 g at 1 l water as the first factor and five level biofertilizers including Control, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Azospirillum* and *Azotobacter* solution as the second factor.

The results of both pottery and field experiments resulted in an increase in the amount of photosynthetic pigments as a result of foliar application of nano iron oxide and inoculation with biofertilizers. Among the treatments studied, *G. intraradices* significantly increased grain yield and yield components significantly compared to control, and its role in increasing the amount of oil, essential oil, and thymokinone essential oil was very noticeable.The fungus increased the length and weight of roots and aerial parts of the plant, which in turn increased the absorption of nitrogen, phosphorus, potassium and iron in the roots, aerial parts and seeds. Inoculation with biofertilizers, especially *G. intraradices*, significantly reduced the activity of catalase, ascorbate peroxidase, and polyphenol oxidase enzymes. These enzymes were significantly increased by increasing the concentration of iron oxide nanoparticles, which appears to be due to the toxicity of excess iron in the plant. Also, considering the significant effect of foliar application of iron nanoxide in qualitative properties, it seems that the concentration of 1.5 grams per liter of iron nanoxide along with *G. intraradices* can improve the quantitative and qualitative characteristics of black cumin.

**Keywords:** Mycorrhizal fungi, Growth promoting bacteria, Photosynthetic Pigments, Essential oil yield, Nutient elements**.**

**Shahrood University of Technology**

Faculty of Agriculture

Ph.D. Thesis in Agronomy

# Effects of foliar application of iron nano particle and biofertilizers on yield, physiological and phytochemical characteristics in black cumin (*Nigella sativa* L.)

**By**:
Maryam Bromand Sivieri

**Supervisor**:
Dr. Mostafa Heydari

**Advisors:**
Dr. Ahmad Gholami
Dr. Hadi Ghorbani

February 2020