ارزیابی تأثیر ریزجانداران حل کننده فسفات، مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر گره زایی در گیاه نخود

احمد علیمددی،[۱*] محمدرضا جهانسوز، حسین بشارتی و رضا توکل افشاری

دکتری زراعت دانشگاه تهران؛ **alimadadi.a@gmail.com**

دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران؛ **jahansuz@ut.ac.ir**

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب؛ **hbesharaty@yahoo.com**

دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران؛ **tavakkol@ut.ac.ir**

چکیده

بهبود جذب عناصر غذایی با روش های زیستی، از اصول کشاورزی پایدار بوده و یکی از راه های تثبیت و افزایش عملکرد می باشد. این آزمایش با هدف ارزیابی تأثیر ریزجانداران حل کننده فسفات، مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر فرایند گره زایی در نخود (Cicer arietinum) در شرایط مزرعه اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل پرایمینگ بذر (آب، Poly Ethylene Glycol 6000 (PEG) و شاهد)، مایکوریزا (Glomus intraradices و شاهد) و ریزجانداران حل کننده فسفات (Bacillus megaterium، Aspergillus niger و شاهد) بودند. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل در چهار تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد در بسیاری از موارد تیمارهای استفاده شده در این آزمایش اثر مثبت بر خصوصیات گره بندی داشتند. از نظر تعداد کل گره ریزوبیوم ایجاد شده بر روی ریشه نخود، تمامی تیمارهای حاوی پرایمینگ، دارای مقادیر مساوی و یا بیشتر نسبت به بذور پرایم نشده بودند. در بین ترکیبات، تیمارهای قارچ حل کننده + پرایمینگ با PEG و باکتری حل کننده + آب نسبت به بقیه تیمارها، تعداد کل گره بیشتری داشتند. پرایمینگ بذر و حل کننده های فسفات باعث افزایش تعداد گره فعال در گیاهان مایکوریزایی شدند. در مورد درصد فعال بودن گره ها، نتایج نشان داد گیاهانی که پرایم شده بودند درصد گره فعال مساوی یا بیشتر نسبت به گیاهان پرایم نشده داشتند. استفاده از قارچ حل کننده فسفات به همراه پرایمینگ، باعث افزایش معنی دار وزن تر گره نسبت به دیگر تیمارها گردید. در مورد وزن خشک گره، مشاهده شد که در حضور پرایمینگ با آب، تمامی ترکیبات ریزجانداران حل کننده دارای بیشترین مقادیر هستند. به طور کلی با توجه به نتایج این آزمایش می توان انتظار داشت تا با ترکیب مناسبی از کودهای زیستی و پرایمینگ بذر، تثبیت زیستی نیتروژن و جذب دیگر عناصر غذایی را بهبود بخشید و در نهایت باعث پایداری و افزایش عملکرد شد. از جمله بهترین ترکیبات تیمارها در این آزمایش می توان به قارچ حل کننده + پرایمینگ با PEG، باکتری حل کننده + پرایمینگ با آب و مایکوریزا + پرایمینگ با آب، اشاره نمود.

واژه های کلیدی: نخود، کود زیستی، تثبیت زیستی نیتروژن، پرایمینگ بذر، گره ریشه ای و ریزوبیوم.

مقدمه

نخود یکی از محصولات مهم زراعی کشور است که بیش از نیمی از سطح کشت حبوبات را به خود اختصاص

۱- نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه زراعت و اصلاح نباتات.

* دریافت: ۸۸/۶/۷ و پذیرش: ۸۸/۷/۲۱

داده است. میانگین عملکرد نخود آبی و دیم کشور به ترتیب در حدود ۱۰۰۰ و ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار می باشد (بی نام، ۱۳۸۵). با توجه به عملکرد کم نخود، هنوز امکان افزایش تولید با روش های به نژادی و به زراعی وجود دارد. در این میان توجه به جذب عناصر غذایی و کیفیت بذر از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

استفاده از کودهای زیستی از جمله راهکارهای بهبود تأمین عناصر غذایی در کشاورزی پایدار می باشد. باکتری ریزوبیوم، که بر روی ریشه بقولات بصورت همزیست زندگی می کند، نیتروژن هوا را تثبیت نموده و در اختیار گیاه میزبان قرار می دهد. بهبود مقدار تثبیت نیتروژن توسط ریزوبیوم ها، می تواند با روش های مختلفی از جمله انتخاب سویه های مناسب هر رقم، سویه های مناسب شراط خاص و توجه به اثرات متقابل ریزوبیوم با دیگر ریزجانداران خاک انجام شود (بک و همکاران، ۱۹۹۳).

بین ریزجانداران مختلف خاک و باکتری ریزوبیوم اثرات متقابل مثبت و منفی وجود دارد که می تواند بر فعالیت این باکتری اثر بگذارد (آلاگاوادی و گوئر، ۱۹۸۸؛ تورو و همکاران، ۱۹۹۸؛ زیدی، ۱۹۹۹). از جمله آنها، ریزجانداران حل کننده فسفات (PSM)[1] و قارچ مایکوریزا (AM)[2] هستند.

امروزه ریزجانداران حل کننده فسفات در سطوح وسیع به عنوان کود زیستی به منظور افزایش تولید و حفظ سلامت خاک استفاده می شوند (خان و همکاران، ۲۰۰۷). بسیاری از مطالعات نشان داده اند که PSM ها فسفر تثبیت شده در خاک را حل کرده و باعث بهبود عملکرد گیاه می شوند (گال و همکاران، ۲۰۰۴؛ زیدی، ۱۹۹۹). تحقیقات نشان داده است که استفاده از PSM ها باعث افزایش جوانه زنی، جذب عناصر، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، گره بندی، کل زیتوده و عملکرد نخود نسبت به شاهد می شود (آلاگاوادی و گوئر، ۱۹۸۸؛ رودرش و همکاران، ۲۰۰۵). کودهای زیستی فسفره می توانند قابلیت جذب فسفر را زیاد کرده و رشد گیاه را با افزایش کارایی تثبیت زیستی نیتروژن، دسترسی عناصر غذایی و تولید هورمون های رشد افزایش دهند (آمر و آتخید، ۲۰۰۰؛ بیسواس و همکاران، ۲۰۰۰).

قارچ های مایکوریزا یکی از اجزای مهم جامعه زیستی خاک هستند و با دیگر ریزجانداران در ریزوسفر اثرات متقابل دارند (بون و رویرا، ۱۹۹۹). قارچ های مایکوریزا نیز باعث افزایش جذب عناصر غذایی، تغییر مرفولوژی ریشه، افزایش جذب آب و جلوگیری از بروز برخی بیماری های ریشه می شوند (آلوش و همکاران، ۲۰۰۰؛ آوگ، ۲۰۰۱). در بعضی آزمایش ها AM به تنهایی تأثیر زیادی بر رشد و عملکرد نخود نداشته است (سلیمان و همکاران، ۲۰۰۵) ولی در بهبود گره بندی باکتری ریزوبیوم، جذب عناصر غذایی و عملکرد نخود نقش داشته است (القندور و گالال، ۲۰۰۲). اندازه گیری تثبیت نیتروژن با تکنیک ^{15}N نشان داده است که تثبیت زیستی نیتروژن در گیاهان مایکوریزایی بیشتر از گیاهان غیر مایکوریزایی است (تورو و همکاران، ۱۹۹۸).

در کنار توجه به جذب عناصر غذایی، بهبود کیفیت بذر نیز از اهمیت ویژه ای برخوردار است. از جمله روش های افزایش کیفیت بذر، پرایمینگ آن می باشد. پرایمینگ، قرار دادن بذر قبل از کاشت در یک محلول با پتانسیل آبی مشخص جهت جذب آب و انجام بعضی مراحل قبل از جوانه زنی می باشد. پرایمینگ می تواند باعث افزایش درصد جوانه زنی، افزایش سرعت جوانه زنی، جوانه زنی تحت شرایط متنوع محیطی و بهبود رشد گیاهچه شود (مک دونالد، ۲۰۰۰). نتایج آزمایشات نشان می دهد که پرایمینگ بذر موجب خروج سریعتر گیاهچه، تحمل بهتر گیاه به خشکی، گلدهی زودتر، افزایش عملکرد گیاهان نخود، ذرت و گندم در مناطق نیمه خشک می شود (هریس و همکاران، ۱۹۹۹؛ هریس و همکاران، ۲۰۰۱؛ موسی و همکاران، ۱۹۹۹؛ موسی و همکاران، ۲۰۰۱).

از آنجا که در بیشتر موارد به اثر مثبت پرایمینگ بر رشد اولیه ریشه اشاره شده است، به نظر می رسد این عامل می تواند بر فعالیت ریزجانداران اشاره شده در فوق اثرات مثبتی داشته باشد. از طرف دیگر اطلاعات در مورد اثرات متقابل پرایمینگ و کودهای زیستی بر روی محصولات زراعی از جمله نخود، خصوصا ارقام ایرانی، بسیار اندک می باشد. هدف این آزمایش، ارزیابی تأثیر ریزجانداران حل کننده فسفات، قارچ مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر گره زایی در نخود بود.

مواد و روش ها

آزمایش در بهار سال ۱۳۸۷ در مزرعه پژوهشی و آموزشی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، واقع در کرج (با ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا و عرض جغرافیایی '۴۸°۳۵ شمالی و طول جغرافیایی '۱۰°۵۱ شرقی) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل در چهار تکرار اجرا شد. نخود با فاصله خطوط کشت، ۵۰ سانتیمتر، فاصله روی ردیف، ۸ سانتیمتر و اندازه کرت های آزمایشی ۳×۲/۵ متر (۷/۵ مترمربع)، و فاصله بین کرتهای آزمایشی، ۱ متر، کاشته شد. قبل از کاشت، از خاک محل آزمایش

1- Phosphate Solubilizing Microorganisms (PSM)
2- Arbuscular Mycorrhiza (AM)

نمونه برداری انجام گردید و برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آزمایش شد. خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک به این شرح بود: pH=۸/۷، موادآلی=۰/۷۸٪، پتاسیم و فسفر قابل جذب به ترتیب ۱۷۸ و ۹ (mg/kg)، نیتروژن=۰/۱۲۴٪، بافت خاک: لوم رسی و وزن مخصوص: ۱/۵۴ g/cm^3.

سطوح فاکتورهای مورد مطالعه عبارت بودند از:

الف) ریزجانداران حل کننده فسفات (۱: *Bacillus megaterium*، ۲: *Aspergillus niger* و ۳: شاهد)،

ب) مایکوریزا (۱: *Glomus intraradices* و ۲: شاهد)،

ج) پرایمینگ بذر (۱: پرایمینگ با آب مقطر، ۲:پرایمینگ با PEG6000[1] و ۳: شاهد).

جهت اعمال تیمارهای پرایمینگ، بذور در محلول PEG (با پتانسیل ۰/۵ mPa) به مدت ۱۸ ساعت و در آب مقطر به مدت ۷ ساعت در دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. برای اطمینان از رسیدن اکسیژن به بذور، محلول های مورد استفاده با پمپ آکواریوم هوادهی شدند. بذور پس از اعمال تیمارها، به مدت ۲۴ ساعت در همان دما بر روی کاغذ صافی خشک گردیدند (کوئر و همکاران، ۲۰۰۶). ابتدا تیمارهای پرایمینگ و سپس بقیه تیمارهای اعمال گردیدند. سویه ریزوبیوم (*Mesorhizobium ciceri*)، مایکوریزا (*Glomus intraradices*) و باکتری حل کننده فسفات (*Bacillus megaterium*) از موسسه تحقیقات خاک و آب و سویه قارچ حل کننده فسفات (*Aspergillus niger*) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردیدند. ریزوبیوم در محیط کشت مایع YMB[2] (بک و همکاران، ۱۹۹۳) و باکتری حل کننده فسفات در محیط کشت مایع Sperber (اسپربر، ۱۹۵۸) به مدت ۳ روز در دمای ۱± ۲۷ ^0C بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰rpm رشد داده شدند. سپس باکتری تکثیر شده با پرلیت پودری، به عنوان حامل مایه تلقیح، به نسبت ۱:۱ (حجم / وزن) مخلوط گردید. جمعیت باکتری در هر گرم حامل برای ریزوبیوم و باکتری حل کننده فسفات به ترتیب ۲/۵×۱۰^8 و ۱/۷×۱۰^7 cfu g^{-1} بود. قارچ حل کننده فسفات بر روی محیط کشت جامد Sperber به مدت ۷ روز در دمای ۱± ۲۷ ^0C کشت گردید. بذر نخود (رقم بیونیج) به نسبت وزنی مساوی با مایه تلقیح باکتری ها به روش بذرمال (آغشته نمودن بذر با مایه تلقیح) تلقیح گردیدند. مایه تلقیح مایکوریزا به مقدار ۵ g به ازای هر بذر، در زیر بذور ریخته شد. تمامی بذور جهت اطمینان از وجود باکتری ریزوبیوم، با آن تلقیح گردیدند.

ریشه ۵ گیاه نخود از هر کرت با دقت فراوان توسط بیل خارج شده و خاک اطراف ریشه با آب شستشو گردید. پس از انتقال سریع ریشه ها به آزمایشگاه، گره های تشکیل شده بر روی ریشه با دقت از ریشه جدا گردید. وزن تر و خشک گره های ریشه، تعداد کل گره، تعداد گره فعال و درصد فعال بودن گره ها اندازه گیری شد. جهت بررسی فعال بودن گره ها، تمامی گره ها با تیغ تیز از وسط بریده شده و گره هایی که صورتی رنگ بودند به عنوان گره های فعال در نظر گرفته شدند (بک و همکاران، ۱۹۹۳). آبیاری تیمارها هر هفته یکبار با روش جوی و پشته ای انجام گردید. در مرحله گلدهی، ریشه به وسیله بیل به آرامی به همراه خاک اطراف آن بیرون آورده شد و پس از شستشو مطالعات گره بندی بر روی آن صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس شاخص های اندازه گیری شده در جدول ۱ آمده است. در مورد صفاتی که اثرات متقابل آنها معنی دار شده است، اثرات اصلی بحث نشده اند.

تعداد کل گره

از نظر تعداد کل گره های ریشه ای نخود، در اثر متقابل پرایمینگ و مایکوریزا، بالاترین مقدار مربوط به تیمار پرایمینگ با آب + مایکوریزا بود (شکل ۱؛ $P\leq 0.01$). تمامی تیمارهای حاوی پرایمینگ، دارای مقادیر مساوی و یا بیشتر تعداد گره نسبت به بذور پرایم نشده، بودند (شکل ۱ و ۲؛ $P\leq 0.01$). مایکوریزا به تنهایی اثر معنی داری بر تعداد گره نداشت. اما هر دو روش پرایمینگ بذر به همراه مایکوریزا باعث افزایش معنی دار تعداد گره شد. علت این مساله می تواند اثرات مثبت پرایمینگ بر روی رشد اولیه ریشه و اثر این امر بر همزیستی مایکوریزا باشد. استفاده از پرایمینگ در هر ۳ سطح عامل حل کننده فسفات، تعداد کل گره مساوی و یا بیشتر را نسبت به بذور پرایم نشده ایجاد کرد (شکل ۲). تیمارهای PEG+PSF[3] و PSB[4]+آب نسبت به بقیه تیمارها، تعداد کل گره بیشتری داشتند (شکل ۲).

سلیمان و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی نشان دادند تلقیح توأم ریزوبیوم و AM به نخود، تعداد گره بیشتری نسبت به کاربرد تنهای ریزوبیوم ایجاد کرد. گال و

1- Poly Ethylene Glycol
2- Yeast-Extract Mannitol Broth
3- Phosphate Solubilizing Fungi
4- Phosphate Solubilizing Bacteria

همکاران (۲۰۰۴) نیز مشاهده کردند استفاده از PSB باعث افزایش ۱/۵ تا ۲ برابری تعداد گره در نخود شد. زیدی و همکاران (۲۰۰۳) در آزمایشی اثر AM، PSB و PSF را بر گره زایی ریزوبیوم مطالعه نمودند. نتایج نشان داد تعداد گره ریزوبیوم در تلقیح دوگانه ریزوبیوم و AM نسبت به تلقیح جداگانه آنها بیشتر بود (۲ برابر نسبت به ریزوبیوم تنها). همچنین تلقیح ۳ گانه ریزوبیوم، AM و PSM باعث افزایش تعداد گره (۳ برابر نسبت به ریزوبیوم تنها) نسبت به تلقیح دوگانه شد. تلقیح ۳ گانه ریزوبیوم، AM و PSF اثر منفی بر تعداد گره داشت و نسبت به تلقیح ۲ گانه تعداد گره کمتری ایجاد کرد.

تعداد و درصد گره های فعال

دو صفت تعداد گره فعال و درصد فعال بودن گره ها اهمیت فراوانی نسبت به دیگر صفت ها دارند. نتایج نشان داد پرایمینگ بذر باعث افزایش تعداد گره فعال در گیاهان مایکوریزایی شد. در حقیقت استفاده از مایکوریزا بدون پرایمینگ اثری بر روی تعداد گره فعال نداشت. در مورد حل کننده های فسفات نیز چنین نتیجه ای مشاهده شد (شکل ۳). در اینجا نیز گیاهان تیمار شده با PSM و پرایمینگ، تعداد گره فعال بالاتری نسبت به بدون پرایم ایجاد کردند. از اشکال ۳ و ۴ چنین می توان نتیجه گرفت که پرایمینگ، باعث افزایش اثر مایکوریزا و PSM ها شده است. در حقیقت اثرمتقابل مثبت داشته اند. در مورد اثرمتقابل مایکوریزا و PSM ، تلقیح با PSF تعداد گره فعال بیشتری نسبت به PSB تولید کرد ($P\leq0.01$).

در مورد درصد فعال بودن گره ها، نتایج نشان داد همه گیاهانی که پرایم شده بودند درصد گره فعال مساوی یا بالاتر نسبت به گیاهان پرایم نشده داشتند (شکل ۵ و ۶). پرایمینگ بذور با آب و بدون مایکوریزا باعث افزایش معنی دار گره فعال شد ($P\leq0.05$). همچنین استفاده از مایکوریزا باعث بهبود اثر پرایمینگ با PEG شد (شکل ۵). در بررسی اثر متقابل پرایمینگ با PSM ها مشاهده می شود که در بذور پرایم نشده، PSF درصد گره فعال بالاتری نسبت به شاهد و باکتری داشت. اما در پرایمینگ با آب تفاوت معنی دار بین PSM ها مشاهده نشد و نتیجه عکس در پرایمینگ با PEG ایجاد گردید (شکل ۶؛ $P\leq0.01$).

کودهای زیستی فسفره می توانند دسترسی فسفر را زیاد کرده و رشد گیاه را با افزایش کارایی تثبیت زیستی نیتروژن، دسترسی عناصر غذایی و تولید هورمون های رشد افزایش دهند (آمر و آتخید ، ۲۰۰۰؛ بیسواس و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعات بر روی تلقیح توأم PGPR ها و ریزوبیوم، بیانگر افزایش زیتوده اندام هوایی و زیرزمینی، وزن خشک گره ها، فعالیت نیتروژناز، تثبیت نیتروژن و عملکرد دانه نخود است (گال و همکاران، ۲۰۰۴؛ زیدی و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه براین، تلقیح مشترک ریزوبیوم و PSM بسیار موثرتر از تلقیح جدای آنها می باشد که احتمالاً به علت تعادل مواد غذایی در گیاه است (بلیموف و همکاران، ۱۹۹۵). آلاگاوادی و گوئر (۱۹۸۸) گزارش کردند که تلقیح ترکیبی ریزوبیوم و PSB باعث افزایش عملکرد، جذب عناصر، گره بندی و فعالیت نیتروژناز نسبت به کاربرد تنهای آنها و همچنین عدم استفاده از آنها خواهد شد. اندازه گیری با تکنیک ^{15}N نیز نشان داده است که تثبیت نیتروژن در گیاهان مایکوریزایی بیشتر از گیاهان غیر مایکوریزایی است (تورو و همکاران، ۱۹۹۸).

کوئر و همکاران (۲۰۰۶) در یک آزمایش ۳ ساله نشان دادند تعداد و وزن گره در بوته های حاصل از بذور پرایم شده توسط آب و مانیتول نسبت به بذور بدون پرایم بیشتر است. علت این پدیده می تواند بهبود سرعت جوانه زنی و همزمانی جوانه زنی، رشد اولیه ریشه و گیاهچه باشد (الکوکا و همکاران، ۲۰۰۷؛ موسی و همکاران، ۲۰۰۱).

وزن تر و خشک گره

نتایج نشان داد که پرایمینگ بذر اثرات مثبت معنی داری بر وزن تر گره دارد (شکل ۷؛ $P\leq0.01$). هر دو تیمار تلقیح با مایکوریزا و بدون مایکوریزا در پرایمینگ با آب افزایش معنی داری نسبت به تیمار بدون پرایم داشتند. تیمار PEG، تنها در شرایط بدون مایکوریزا، وزن تر گره بالاتری نسبت به بدون پرایم داشت. سطوح PSM، در شرایط بدون پرایمینگ، تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۸؛ $P\leq0.05$). استفاده از PSF به همراه پرایمینگ، باعث افزایش معنی دار وزن تر گره نسبت به دیگر تیمارها گردید (شکل ۸). در شکل ۹ مشاهده می شود تنها تفاوت معنی دار، هنگامی حاصل می شود که PSF بدون مایکوریزا بکار می رود.

در مورد وزن خشک گره، در اثرمتقابل PSM و مایکوریزا، تنها اختلاف معنی دار مربوط به اثر مایکوریزا در حضور باکتری بود که باعث افزایش ۲ برابری وزن خشک گره شد (شکل ۱۰؛ $P\leq0.01$). همچنین در حضور پرایمینگ با آب، تمامی ترکیبات PSM دارای بالاترین مقادیر بودند (شکل ۱۱؛ $P\leq0.01$).

زیدی و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که استفاده از ریزوبیوم به همراه PSM و AM، باعث افزایش وزن خشک گره ریزوبیوم می شود. سلیمان و همکاران (۲۰۰۵) نیز نتیجه گرفتند استفاده از ریزوبیوم همراه با AM در نخود، باعث افزایش وزن خشک گره نسبت به کاربرد

تنهای ریزوبیوم می شود. در آزمایشی کاربرد مشترک ریزوبیوم و AM در سویا نیز باعث افزایش معنی دار تعداد و وزن خشک گره شد (هرناندز و هرناندز، ۱۹۹۶).

رودرش و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایش گلدانی کنترل شده اختلاف معنی داری بین کاربرد تنهای ریزوبیوم و استفاده با هم PSB و ریزوبیوم از نظر تعداد گره و وزن خشک گره مشاهده نکردند. گال و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند استفاده از حل کننده فسفات باعث افزایش معنی دار وزن خشک گره در گیاه نخود می شود.

بحث

از بین تیمارهای اعمال شده در این آزمایش، قارچ حل کننده فسفات، مایکوریزا و پرایمینگ، اثرات مثبتی بر خصوصیات گره بندی ریزوبیوم در نخود داشتند. مکانیسم ایجاد چنین اثرات مثبتی می تواند به علت فراهمی عناصر غذایی توسط این ریزجانداران (زیدی و همکاران، ۲۰۰۳؛ زیدی و همکاران، ۲۰۰۶)، ترشح مواد محرک رشد (زیدی و همکاران، ۲۰۰۳) و همچنین تغییر در ساختمان ریشه (آتکینسون و همکاران، ۱۹۹۴؛ برتا و همکاران، ۲۰۰۲) باشد.

بسیاری از مطالعات نشان داده اند که PSM ها فسفر تثبیت شده در خاک را حل کرده و باعث افزایش عملکرد گیاه می شوند (گال و همکاران، ۲۰۰۴؛ زیدی و همکاران، ۱۹۹۹). کودهای زیستی فسفره می توانند دسترسی فسفر را زیاد کرده و رشد گیاه را با افزایش کارایی تثبیت زیستی نیتروژن، دسترسی عناصر غذایی و تولید هورمون های رشد افزایش دهند (آمر و آتخید، ۲۰۰۰؛ بیسواس و همکاران، ۲۰۰۰).

تحقیقات نشان می دهد تلقیح همزمان گونه های ریزوبیوم و *Bacillus sp.* باعث بهبود رشد ریشه، زیتوده هوایی، درصد و کل نیتروژن گیاه در نخود و دیگر لگوم ها می شود (مل نیکوا و همکاران، ۲۰۰۲؛ پارمار و دادارول، ۱۹۹۹).

افزایش رشد گیاه و جذب مواد غذایی در نتیجه تلقیح مایکوریزا، نشان دهنده یک رابطه مثبت قوی بین کلنیزاسیون ریشه، جذب عناصر غذایی و بهبود رشد می باشد (زیدی و خان، ۲۰۰۶). مشاهده شده است که کلنیزاسیون AM باعث تغییرات وسیع شاخص های مورفولوژیکی ریشه به ویژه افزایش شاخه دهی ریشه می شود (آتکینسون و همکاران، ۱۹۹۴؛ برتا و همکاران، ۲۰۰۲). بایانسیاتو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند ریزوبیوم می تواند به هیف های AM چسبیده و از آن به عنوان راه نفوذ به ریشه استفاده کند. از طرف دیگر از آنجا که تشکیل گره ریزوبیوم نیاز شدیدی به فسفر دارد، فایده مهم AM برای همزیستی ریزوبیوم، فراهم کردن فسفر است. علاوه بر فسفر، عناصری از قبیل کلسیم، مولیبدن، مس و روی نیز بوسیله AM ممکن است در اثر متقابل موثر باشند. گره ها معمولا ۲ تا ۳ برابر ریشه فسفر نیاز دارند و ازاینرو به تلقیح با AM واکنش نشان می دهند (موسه، ۱۹۸۶).

در بسیاری از موارد مشاهده شده است که ترکیب سه گانه PSM، AM و ریزوبیوم، باعث افزایش اثرات مثبت آنها خواهد شد. تلقیح همزمان PSM و AM باعث بهبود گره بندی، جذب نیتروژن و فسفر و عملکرد نخود می شود. این فواید به علت اثرات تجمعی فراهم کردن عناصر برای گیاه و همچنین تولید مواد تقویت کننده رشد می باشد (زیدی و همکاران، ۲۰۰۳).

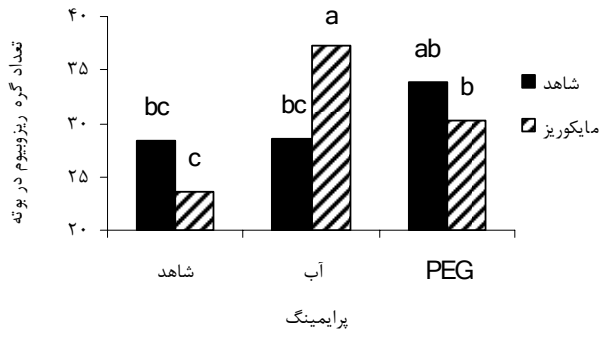
نتایج آزمایش حاضر نشان می دهد که در اکثر موارد اثر ریزجانداران حل کننده فسفات و AM بر خصوصیات تثبیت نیتروژن مثبت و در مواردی بی تأثیر بود. اثر مثبت این ریزجانداران، احتمالاً به علت فراهمی عناصر غذایی و ترشح هورمون های رشد می باشد. در مورد پرایمینگ نیز مشاهده شد که در اکثر موارد باعث بهبود گره بندی و فعال بودن آن شد. این پدیده نیز می تواند به علت تأثیر بر رشد اولیه ریشه و بهبود بنیه گیاهچه باشد. در مجموع با توجه به نتایج این آزمایش می توان انتظار داشت تا با ترکیب مناسبی از کودهای زیستی، تثبیت نیتروژن و جذب دیگر عناصر غذایی را بهبود بخشید و در نهایت پایداری و افزایش عملکرد را فراهم نمود.

جدول ۱- میانگین مربعات صفات مربوط به گره زایی Mesorhizobium ciceri بر روی ریشه نخود

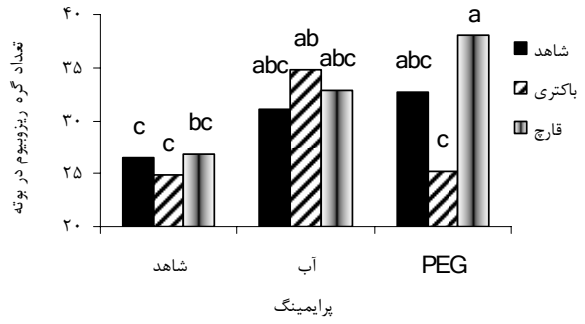
منابع تغییر	تعداد کل گره	تعداد گره فعال	درصد فعال بودن گره ها	وزن تر گره	وزن خشک گره
Rep	۵۹,۹۴ n.s.	۲۰ n.s.	۱۲۴,۳۸ n.s.	۰,۰۲۸ n.s.	۰,۰۰۲ n.s.
P	۳۳۸,۷۲۲ **	۳۲۶,۶۸۱ **	۵۰۳,۸۲ *	۱,۳۰۹ **	۰,۰۱۶ **
M	۰,۳۴۷ n.s.	۱,۳۹ n.s.	۳۶,۷۹ n.s.	۰,۰۵۵ n.s.	۰,۰۰۳ n.s.
P*M	۳۳۵,۷۲۲ **	۱۸۴,۶۸ **	۴۹۲,۱۰ *	۰,۶۵۶ **	۰,۰۰۴ n.s.
S	۱۰۹,۲۶۴ *	۲۱۰,۷۲ **	۵۲۶,۰۵ *	۰,۴۹۶ **	۰,۰۰۱ n.s.
P*S	۱۳۰,۸۶۸ **	۱۰۳,۵۴ **	۱۱۰۰,۳۹ **	۰,۱۴۹ *	۰,۰۱ **
M*S	۶۲,۶۸۱ n.s.	۳۶۸,۳۹ **	۱۴۷۹,۲۱ **	۰,۷۵۲ **	۰,۰۱۲ **
P*M*S	۳۸,۳۶۸ n.s.	۵۲,۹۹ n.s.	۹۴,۰۳ n.s.	۰,۲۱۶ **	۰,۰۰۱ n.s.
خطای آزمایشی	۳۱,۲۶۳	۲۱,۵۶	۱۲۵,۶۲	۰,۰۴۳	۰,۰۰۲
٪ CV	۱۸,۴۲	۲۱,۷۲	۱۶,۳۵	۲۸	۲۱,۸۵

n.s: غیر معنی دار؛ * و **: به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱ ٪ احتمال خطا

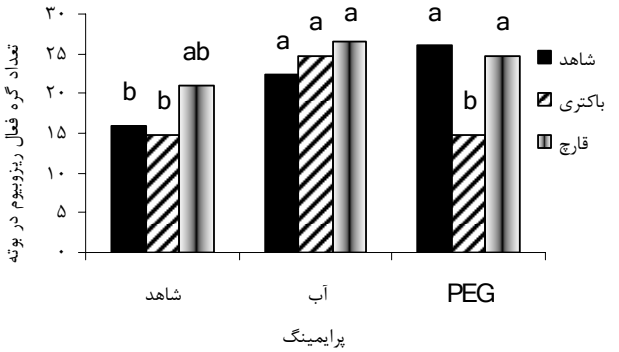
P: پرایمینگ، M: مایکوریزا، S: حل کننده فسفات و Rep: تکرار



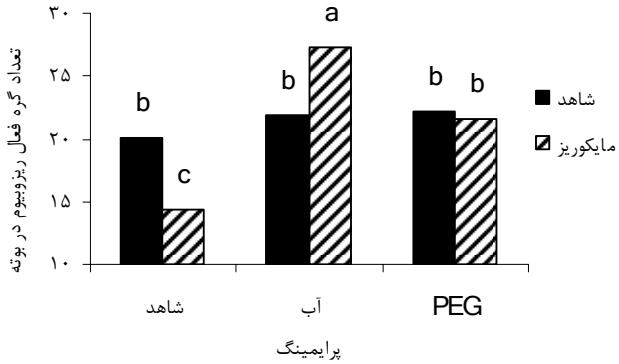
شکل ۱ - اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر تعـداد کل گره ریزوبیوم در نخـود



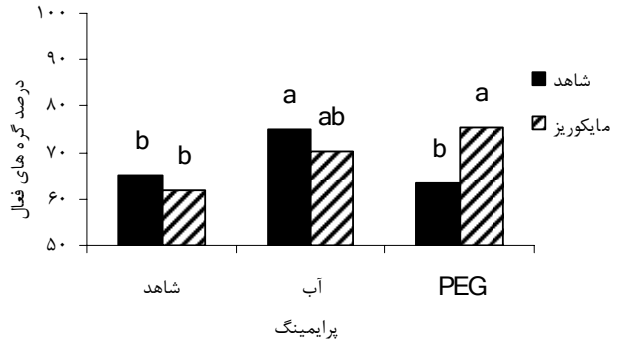
شکل ۲ - اثر متقابل تلقیح با میکروارگانیسم های حل کننده فسفات و پرایمینگ بذر بر تعداد کل گره ریزوبیوم در نخـود



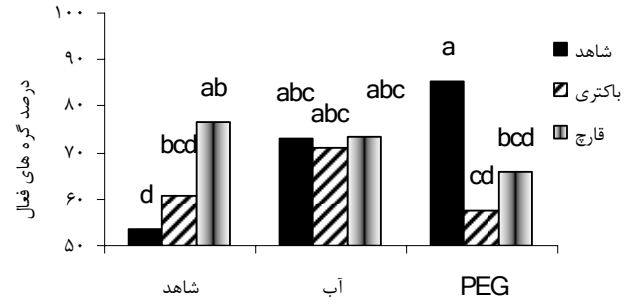
شکل ۳ - اثر متقابل تلقیح با میکروارگانیسم های حل کننده فسفات و پرایمینگ بذر بر تعداد گره فعال ریزوبیوم در نخـود



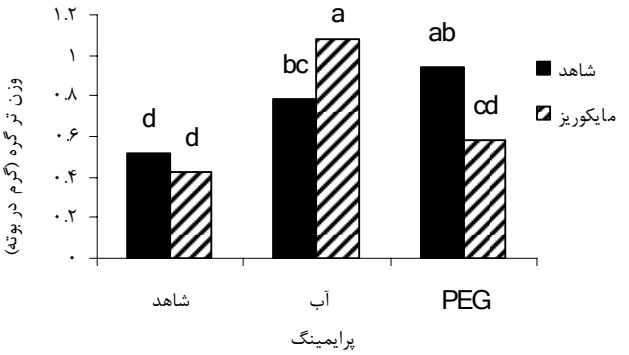
شکل ۴ - اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر تعـداد گره فعال ریزوبیوم در نخـود



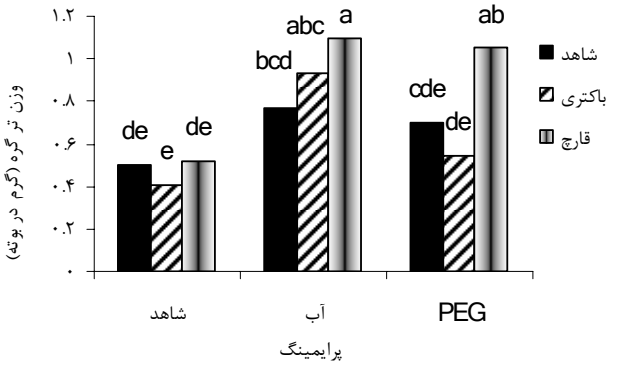
شکل ۵ - اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریز و پرایمینگ بذر بر درصـد گره های فعال در نخود



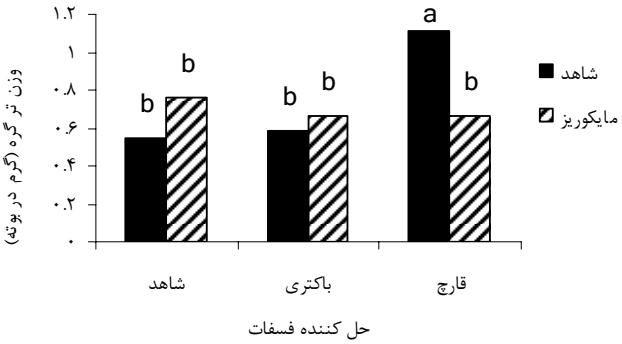
شکل ۶ - اثر متقابل تلقیح با میکروارگانیسم های حل کننده فسفات و پرایمینگ بذر بر درصد گره های فعال در نخـود



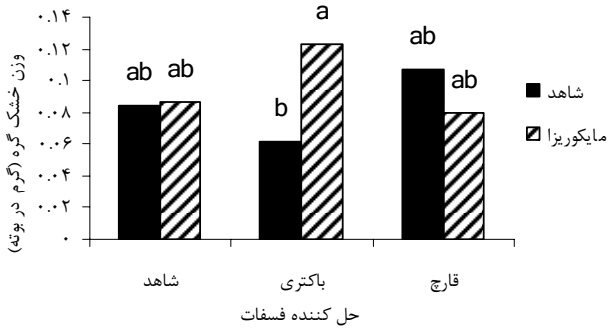
شکل ۷ - اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر وزن تـر گره ریزوبیوم نخـود



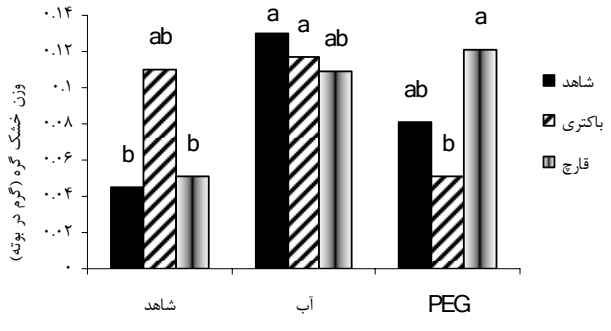
شکل ۸ - اثر متقابل تلقیح با میکروارگانیسم های حل کننده فسفات و پرایمینگ بذر بر وزن تر گره ریزوبیوم در نخـود



شکل ۹ - اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریز و میکروارگانیسم های حل کننده فسفات بر وزن تر گره ریزوبیوم در نخود



شکل ۱۰ - اثر متقابل تلقیح با قارچ مایکوریزا و میکروارگانیسم های حل کننده فسفات بر وزن خشک گره ریزوبیوم نخود



شکل ۱۱ - اثر متقابل تلقیح با میکروارگانیسم های حل کننده فسفات و پرایمینگ بذر بر وزن خشک گره ریزوبیوم نخود

فهرست منابع:

۱. بی نام. ۱۳۸۵. آمارنامه تولید و سطح زیر کشت سال زراعی ۸۴-۱۳۸۳. وزارت جهاد کشاورزی.

2. Alagawadi, R. and A.C. Gaur. 1988. Associative effect of *Rhizobium* and phosphate-solubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chickpea. Plant and Soil, 105: 241-246.
3. Alloush, G.A.Z., S.K. Zeto, and R.B. Clark. 2000. Phosphorus source, organic matter, and arbuscular mycorrhizae effects on growth and mineral acquisition of chickpea grown in acidic soil. Journal of Plant Nutrition, 23: 1351-1369.
4. Amer, G. A. and R. S. Utkhede. 2000. Development of formulation of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. Canadian Journal of Microbiology, 46: 809–816.
5. Atkinson, S., G, Berta and J. E. Hooker. 1994. Impact of mycorrhizal colonisation on root architecture, root longevity and the formation of growth regulators. In Gianinazzi S. and H. Schüepp (Eds.), Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems (pp. 47-60). Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
6. Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11: 3–42.
7. Beck, D. P., L. A. Materon and F. Afandi. 1993. Practical Rhizobium-legume technology manual. ICARDA, Aleppo, Syria.
8. Belimov, A. A., P. A. Kojemiakov and C. V. Chuvarliyeva. 1995. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant and Soil, 17: 29–37.
9. Berta, G., A, Fusconi and J. E. Hooker. 2002. Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems: scale, mechanisms and consequences. In Gianinazzi, S., H. Schüepp, J. M. Barea and K. Haselwandter (Eds.), Mycorrhiza Technology in Agriculture, from Genes to Bioproducts (pp. 71-85). Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
10. Bianciotto, V., S. Andreotti, R. Balestrini, P. Bonfante and S. Perotto. 2001. Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures. European Journal of Histochemistry, 45: 39-49.
11. Biswas, J. C., J. K. Ladha and F. B. Dazzo. 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of low land rice. Soil Science Society of America Journal, 64: 1644–1650.
12. Bowen G.D. and A.D. Rovira. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Advances in Agronomy, 66: 1–102.
13. Elkoca, E., K. Haliloglu, A. Estikin and S. Ercisli. 2007. Hydro- and osmopriming improve chickpea germination. Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science, 57: 193-200.
14. El-Ghandour, I.A. and Y.G. Galal. 2002. Nitrogen fixation and seed yield of chickpea cultivars as affected by microbial inoculation, crop residue and inorganic N fertilizer. Egyptian Journal of Microbiology, 37: 233-246.
15. Gull, F.Y., I. Hafeez, M. Saleem and K. A. Malik. 2004. Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and a mixed rhizobial culture. Australian Journal of Experimental Agriculture, 44: 623-628.
16. Harris, D., A. Joshi, P.A. Khan, P. Gothkar and P.S. Sodhi. 1999. On farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. Experimental Agriculture, 35: 15-29.
17. Harris, D., B.S. Raghuwenshi, J.S. Gangwar, S.C. Singh, K.B. Joshi, A. Rashid and P.A.

Hollington. 2001. Participatory evaluation by farmers of on-farm seed priming in wheat in India, Nepal and Pakistan. Experimental Agriculture, 37: 403-415.
18. Hernandez, A. and A. N. Hernandez. 1996. Effect of the AM-*Rhizobium* interaction in cultivation of soybeans (*Glycin max*.). Cultivose Tropicales, 17: 5-7.
19. Kaur, S., A.K. Gupta and N. Kaur. 2006. Effect of hydro- and osmopriming of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds on enzymes of sucrose and nitrogen metabolism in nodules. Plant Growth Regulation, 49: 177–182.
20. Khan, M.S., A. Zaidi and P.A. Wani. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture. Agronomy for Sustainable Development, 27: 29-43.
21. McDonald, M. 2000. Seed primping. pp: 287-325. In: Black, M. and J.D. Bewley. (Eds). Seed technology and its biological basis. Sheffield Academic Press. Florida.
22. Mel'nikova, N. N., L. V. Bulavenko, I. K. Kurdish, L. V. Titova and S. Y. Kots. 2002. Formation and function of the legume–rhizobium symbiosis of soybean plants while introducing bacterial strains from the genera *Azotobacter* and *Bacillus*. Applied Biochemistry and Microbiology, 38: 68–372.
23. Mosse, B. 1986. Mycorrhiza in a sustainable agriculture. Biological Agriculture and Horticulture, 3: 191-209.
24. Musa, A.M., J. Johansen, J. Kumar and D. Harris. 1999. Response of chickpea to seed priming in the high Barind Tract of Bangladesh. International Chickpea Pigeonpea Newsletter, 6: 20-22.
25. Musa, A.M., D. Harris, C. Johansen and J. Kumar. 2001. Short duration chickpea to replace fallow after Aman rice: the role of on-farm seed priming in the High Barind Tract of Bangladesh. Experimental Agriculture, 37: 509-521.
26. Parmar, N. and K. R. Dadarwal. 1999. Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by rhizobacteria. Journal of Applied Microbiology, 86: 36–44.
27. Rudresh, D.L., M.K. Shivaprakash and R.D. Prasad. 2005. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Applied Soil Ecology, 28:139-146.
28. Solaiman, A.R.M., M.G. Rabbani and M.N. Moll. 2005. Effects of inoculation of Rhizobium and arbuscular mycorrhiza, poultry litter, nitrogen, and phosphorus on growth and yield in chickpea. Korean Journal of Crop Science, 50: 256-261.
29. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research, 9: 778–781.
30. Toro, M., R. Azcon and M. Barea. 1998. The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of *Rhizobium* genotype, mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa*. New Phytologist, 138: 265–273.
31. Zaidi, A. 1999. Synergistic interactions of nitrogen fixing microorganisms with phosphate mobilizing microorganisms. Ph.D. Thesis, Aligarh Muslim University, Aligarh.
32. Zaidi, A., M.S. Khan and M. Amil. 2003. Interactive effects of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). European Journal of Agronomy, 19: 15-21.
33. Zaidi, A. and M.S. Khan. 2006. Co-inoculation Effects of Phosphate Solubilizing Microorganisms and *Glomus fasciculatum* on Green Gram-*Bradyrhizobium* Symbiosis. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 30: 223-230.