Archive of SID

بررسی خصوصیات ریشه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تیمارهای ریزوبیوم، میکوریزای آرباسکولار و شبه میکوریزای داخلی در شرایط خاک استریل و غیراستریل

محمد جواد ارشدی[۱*]، مهدی پارسا[۲]، امیر لکزیان[۳]، محمد کافی[۲]

۱- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- گروه زراعت، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* مسئول مکاتبه: Javad_arshadi24@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۵ **DOI: 10.22034/csrar.2021.268645.1080**

چکیده

به‌منظور بررسی تلقیح بذور نخود با ریزوبیوم، میکوریزای آرباسکولار و شبه میکوریزای داخلی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با سه فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به اجرا در آمد. فاکتور اول شامل دو نوع خاک استریل شده (قراردادن خاک در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو) و استریل نشده، فاکتور دوم شامل سه سطح میکوریزا (میکوریزای آرباسکولار *Glomus mosseae*، شبه میکوریزای داخلی *Piriformospora indica* و عدم مصرف قارچ) و فاکتور سوم شامل دو سطح ریزوبیوم (مصرف ریزوبیوم *Mesorhizobium ciceri* و عدم مصرف ریزوبیوم) بود. نتایج نشان داد که میکوریزای آرباسکولار به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن، سطح و میزان کلونیزاسیون ریشه گردید؛ اما اثر آن بر تعداد گره‌های ریزوبیومی معنی‌دار نشد. همچنین مصرف ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن، سطح و تعداد گره‌های ریزوبیومی ریشه گردید؛ لکن کاربرد آن تأثیری بر میزان کلونیزاسیون ریشه نداشت. در شرایط خاک غیراستریل، تعداد گره‌های ریزوبیومی و میزان کلونیزاسیون ریشه به‌طور معنی‌داری افزایش نشان دادند. بررسی اثرات متقابل نشان داد که اعمال شرایط خاک استریل و مصرف میکوریزا در صفات سطح و میزان کلونیزاسیون ریشه نسبت به سایر تیمارها بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. همچنین کاربرد تلفیقی میکوریزا و ریزوبیوم سبب برتری معنی‌دار طول و سطح ریشه گردید. کاربرد ریزوبیوم درشرایط خاک غیراستریل، نسبت به شرایط خاک استریل و عدم کاربرد ریزوبیوم، تعداد گره‌های ریزوبیومی را به‌طور معنی‌داری و به میزان ۹۰/۵ درصد افزایش داد. به نظر می‌رسد که استفاده از میکوریزا در زراعت نخود می‌تواند در بهبود ویژگی‌های ریشه مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: اتوکلاو، سطح ریشه، کلونیزاسیون ریشه، گره‌های ریزوبیومی

مقدمه

طی چند دهه اخیر، مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی برای دستیابی به تولید هرچه بیشتر محصولات کشاورزی، علاوه بر افزایش هزینه‌های تولید، پیامدهای زیست‌محیطی نامطلوبی را در افزایش آلودگی منابع آب‌وخاک به همراه داشته است. بااین‌حال، ایده بازگشت به طبیعت و استفاده کمتر از کودها و سموم شیمیایی و تمایل فزایندهٔ مردم به استفاده از محصولات ارگانیک سبب توجه بیش از پیش به استفاده از کودهای زیستی شده است. کاربرد منابع بیولوژیک بجای منابع شیمیایی نقش مهمی در باروری و حاصلخیزی خاک و درعین‌حال حفاظت از محیط‌زیست دارد (Zaidi *et al.*, 2003). استفاده از کودهای زیستی از جمله راهکارهای بهبود تأمین عناصر غذایی در کشاورزی پایدار به شمار می‌رود. به‌عبارت‌دیگر، یکی از ارکان اصلی کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی، با رویکرد به حداقل رسانیدن مصرف نهاده‌های شیمیایی می‌باشد (Sharma, 2002). از جمله میکروارگانیسم‌های مفید که در تهیه و تولید کودهای زیستی نقش پررنگی دارند، قارچ‌های میکوریزا هستند. گزارش‌های علمی از موفقیت این ریزجانداران در برقراری ارتباط همزیستی با ریشه گیاهان زراعی از جمله لگوم‌ها حکایت دارند. چرا که این میکروارگانیسم‌ها به‌ازای دریافت کربن تثبیت شدهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

فتوسنتزی، عناصر غذایی را به فرم قابل جذب برای گیاه در می‌آورند (Shrimant Shridhar, 2012).

تحقیقات نشان داده‌اند که حبوبات، به‌واسطه داشتن رابطه همزیستی مسالمت‌آمیز با باکتری‌های ریزوبیوم، نقش مهمی را برقراری چرخه نیتروژن ایفا می‌کنند (Ren *et al.,* 2019) و مشخص شده است که ایجاد کلونی در ریشه‌ها توسط قارچ میکوریزا شرایط را برای گره‌زایی ریزوبیوم مساعد می‌کند. قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم، قبل از اینکه هریک با گیاه میزبان، همزیستی ایجاد کنند، در محیط ریزوسفری گیاه میزبان مستقیماً بر روی هم تأثیر می‌گذارند (Ford Denison and Toby Kiers, 2011). ازاین‌رو، میکوریزاها هم در ایجاد شرایط مساعد برای تولید گره‌های ریزوبیومی بر روی ریشه و هم در فراهمی بیشتر فسفر برای فعالیت آنزیم نیتروژناز موجود در باکتری‌های ریزوبیوم نقش دارند. در مقابل، ریزوبیوم‌ها در جذب بهتر نیتروژن و به دنبال آن سنتز بیشتر اسیدهای آمینه و فراهمی اسیدهای آمینه موردنیاز میکوریزاها ایفای نقش می‌کنند (Koocheki *et al*., 2005; Diouf *et al*., 2003).

مطالعات نشان داده‌اند که VAMها[1] (که جدیداً به AMFها[2] نام‌گذاری شده‌اند) عموماً از گروه زیگومایست‌ها بوده و قارچ‌های اکتومیکوریزا عمدتاً جزء گروه بازیدیومایست‌ها هستند (Asadi Rahmani *et al*., 2007; Singh *et al*., 2000). اما یک گونهٔ جدید از بازیدیومایست‌ها با نام *Piriformospora indica* شناسایی شده که همانند AMFها عمل کرده و اندوفیت می‌باشد و برخلاف سایر هم گروه‌های خود، به داخل ریشه گیاه میزبان نفوذ پیدا می‌کند (Verma *et al*., 1998)؛ به همین دلیل اصطلاحاً به آن شبه میکوریزای داخلی نیز می‌گویند. تحقیقات انجام شدهٔ اخیر حکایت از افزایش تحمل گیاهان زراعیِ هم‌زیست شده با این سویه جدید، در شرایط محیطی مختلف دارند (Ghaffari *et al.,* 2019; Stein *et al*., 2008; Baltruschant *et al*., 2008). مزیت اصلی سویهٔ *P. indica* آن است که برخلاف AMFها، یک هم‌زیست اختیاری بوده و به‌راحتی در محیط آزمایشگاه تکثیر می‌شود و قابلیت کشت در محیط‌های مصنوعی را دارد (Verma *et al*., 1998).

نخود از جمله بقولاتی است که در بین حبوبات کشت شده در ایران، بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده است (Alimadadi *et al*., 2010). این گیاه در بین حبوبات به‌عنوان سومین محصول در جهان و اولین محصول در غرب آسیا و شمال آفریقا مطرح است و یک محصول دانه‌ای مهم در نظام‌های کشاورزی دیم به شمار می‌رود (Malhotra *et al*., 2002; Soltani *et al*., 2001). جایگاه برجستهٔ نخود در بین گیاهان زراعی در شرایطی رقم خورده است که متوسط عملکرد نخود آبی و دیم کشور به ترتیب در حدود ۱۳۹۲ و ۴۰۲ کیلوگرم در هکتار بوده که نسبت به سایر کشورهای تولیدکننده این محصول، عملکرد پایینی می‌باشد (Report of crops statistics, 2016). به همین جهت، این مطالعه با هدف بررسی اثر تلقیح بذور نخود با ریزوبیوم، قارچ‌های AMF و شبه میکوریزای داخلی و تأثیر همزیستی سه گانهٔ آنها بر برخی از خصوصیات ریشه نخود در دو شرایط خاک استریل و غیراستریل انجام گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۴-۹۳ در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد واقع در پردیس دانشگاه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور و در سه تکرار به اجرا در آمد. فاکتور اول شامل دو نوع خاک استریل شده (قراردادن خاک در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو) (Farzaneh *et al*., 2009) و استریل نشده، فاکتور دوم شامل سه سطح میکوریزا (میکوریزای آرباسکولار *Glomus mosseae*، شبه میکوریزای داخلی *Piriformospora indica* و عدم مصرف قارچ) و فاکتور سوم شامل دو سطح ریزوبیوم (مصرف ریزوبیوم گونهٔ *Mesorhizobium ciceri* و عدم مصرف ریزوبیوم) بود. قبل از کاشت بذور، از خاک مورد بررسی، نمونه‌برداری شد (جدول ۱). بافت خاک موردنظر از نوع لوم شنی بود. ازآنجایی‌که در این تحقیق بررسی برخی خصوصیات ریشه مدنظر بودند و جداسازی ریشه‌ها از خاک‌های با بافت درشت‌تر راحت‌تر است، لذا ترکیب خاک مورداستفاده برای گلدان‌ها شامل سه‌چهارم ماسه و یک‌چهارم خاک مزرعه بود. علاوه بر این، باتوجه‌به اینکه احتمال ایجاد همزیستی بین ریشهٔ گیاه و ریزجانداران خاک در خاک‌های فقیر بیشتر است، لذا از انجام هرگونه کوددهی خودداری گردید.

1. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza
2. Arbuscular Mycorrhiza Fungi

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مشخصات خاک استفاده شده در آزمایش
Table 1- Used soil characters in experiment

رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	کربن آلی OC (%)	پتاسیم K (ppm)	فسفر P (ppm)	نیتروژن N (ppm)	هدایت الکتریکی EC (dS/m)	اسیدیته pH
10.0	16.6	73.4	0.195	114	32.3	428	3.98	7.08

جهت اجرای آزمایش، تعداد ۳۶ عدد گلدان با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر، ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و با گنجایش پنج کیلوگرم خاک تهیه و با حجم یکسانی از خاک (پنج کیلوگرم خاک) پر شدند و در تاریخ ۱۲ آبان‌ماه، در هر گلدان سه عدد بذر نخود (ژنوتیپ MCC537، تهیه شده از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد) کشت شد. گلدان‌ها و بذور ابتدا با محلول هیپوکلریت سدیمِ پنج درصد، ضدعفونی و سپس با آب مقطر شسته شدند. قبل از کاشت بذور، ۵۰ گرم از مایه تلقیح میکوریزای موردنظر به خاک هر یک از گلدان‌هایی که دارای تیمار قارچ VAM بودند اضافه گردید (در محدوده سطح خاک گلدان تا چند سانتی‌متر پایین‌تر از عمق کاشت بذر) (Parsa Motlagh *et al*., 2011). همچنین در مرحله گیاهچه‌ای و در زمان چهار تا شش برگی گیاه، خاک اطراف ریشه‌ها به‌آرامی کنار زده شد و پنج میلی‌لیتر از میسیلیوم‌های قارچ شبه میکوریزای داخلی بر روی ریشه‌ها قرار گرفت (Haji Nia *et al*., 2011). جهت تلقیح بذور به باکتری ریزوبیوم هم‌زیست نخود، مایه تلقیح تجاری این باکتری از شرکت زیست‌فناوری مهر آسیا در تهران تهیه شد و مطابق با روش توصیه شده توسط این شرکت، به‌صورت بذرمال، به طور یکسان برای کلیه گلدان‌هایی که دارای تیمار ریزوبیوم بودند، مورد استفاده قرار گرفت (Izadi Darbandi, and Akram, 2012). محیط کشت قارچ *P. indica* جهت تکثیر، بصورت محیط کشت جامد آماده‌سازی گردید (Kumar *et al*., 2011). سپس قارچ *P. indica* بر روی پلیت‌ها تلقیح شد و پتری‌ها جهت رشد و تکثیر قارچ به گرم‌خانه منتقل شدند.

در این تحقیق تلاش شد تا خاک گلدان‌ها در وضعیت FC[1] حفظ گردد. بدین منظور، جهت اعمال شرایط FC برای گلدان‌های آزمایش، ابتدا خاک یکی از گلدان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و خاک خشک آن توزین گردید. سپس خاک خشک شده به گلدان برگردانده شد و گلدان از آب اشباع گردید. در ادامه اجازه داده شد تا آب ثقلی از گلدان خارج شود. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به‌تدریج کاهش یافت و سپس ثابت گردید (مرحله ظرفیت زراعی). از تفاضل وزن خاک تر با وزن خاک خشک، رطوبت خاک در شرایط FC محاسبه شد. باتوجه‌به اینکه تمامی گلدان‌ها از وزن یکسانی برخوردار بودند، با توزین گلدان‌ها به‌صورت هر سه روز یک‌مرتبه و اضافه‌کردن رطوبت کسر شده به آنها، وضعیت رطوبتی گلدان‌ها در حد FC حفظ گردید (Arshadi, 2011).

آزمایش تا شروع گلدهی ادامه یافت (هنگامی‌که یک بوته از سه بوتهٔ موجود در هر گلدان به گل رفته بود، شروع گلدهی تلقی گردید و در این مدت تلاش شد تا دمای روزانهٔ گلخانه در محدودهٔ ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دمای شبانهٔ آن در محدودهٔ ۱۸ درجه سانتی‌گراد حفظ شود. همچنین باتوجه‌به اینکه نخود گیاهی روزبلند است، لذا در طول انجام آزمایش، کمی قبل از غروب خورشید، به مدت ۲ ساعت (از ساعت ۱۶ الی ۱۸) نوردهی توسط لامپ‌های بخار سدیمی صورت گرفت.

با شروع گلدهی، بوته‌های هر گلدان از آن، خارج و تمام ریشه‌های گیاه با دقت از خاک جدا و در یک الک بسیار ریز شسته شدند تا کاملاً عاری از خاک شوند. در ادامه، برای هر بوته، تعداد گره‌های ریزوبیومی شمارش شدند. وزن ریشه برای هر بوته نیز اندازه‌گیری شد. صفات سطح ریشه و مجموع طول ریشه نیز توسط دستگاه اسکن ریشه مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی میزان کلونی‌زایی قارچ‌های میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی بر روی ریشه، ابتدا با استفاده از یک دستمال پارچه‌ای تمیز، رطوبت اضافی ریشه‌ها گرفته شد. پس از آن، از هر ریشه، ۱۰ قطعهٔ یک تا دو سانتی‌متری جدا گردید که این قطعات جهت انتقال به آزمایشگاه درون محلول FAA (فرمالین- اسید استیک- الکل ۵۰ درصد به نسبت حجمی ۵:۵:۹۰) قرار گرفتند و

1. Field Capacity

www.SID.ir

Archive of SID

سپس به روش کرومانیک و مک‌گرو (Kormanik and McGraw, 1982) رنگ‌آمیزی شدند. بدین ترتیب که ابتدا نمونه‌های ریشه از محلول FAA خارج و سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند. سپس ریشه‌ها در محلول KOH ۱۰ درصد (۱۰ گرم هیدروکسید پتاسیم که با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانیده شده باشد) قرار گرفته و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پاسکال اتوکلاو شدند (در پایان این مرحله ریشه‌ها به رنگ زرد کم‌رنگ در می‌آیند). سپس محلول مذکور دور ریخته شده و ریشه‌ها سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. بعد از آن، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرار داده شدند تا آماده رنگ‌پذیری شوند. در ادامه، ریشه‌ها از داخل اسید برداشته شده و بدون اینکه مورد شستشو قرار گیرند، بر روی آنها محلول رنگی (اسید فوشین در اسید لاکتیک ۰/۰۱ درصد) اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه از قرارگیری ریشه‌ها در محلول رنگی، ریشه‌ها در محلول رنگ‌بر (اسید لاکتیک) قرار داده شدند تا رنگ اضافی روی آنها حذف شود (Namvar, 2014). در ادامه، میزان کلونی‌زایی قارچ‌ها بر روی ریشه، از طریقِ روش جیووانتی و موسه (Giovannetti and Mosse, 1980) محاسبه گردید. بدین صورت که کاغذ مربعی شکلی به ابعاد ۱۰ * ۱۰ سانتی‌متر تهیه گردید که خود، به مربعات کوچکتر، به ابعاد ۰/۵ * ۰/۵ سانتی‌متر شبکه‌بندی و در زیر پتری‌دیش قرار داده شد. ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به‌طور تصادفی درون پتری دیش، پخش و در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. سپس کل مکان‌های تلاقی ریشه (مجموع قسمت‌های میکوریزایی شده و قسمت‌های غیرمیکوریزایی) و نیز مکان‌های تلاقی میکوریزایی ریشه‌ها با شبکه، روی خطوط افقی و عمودی شمرده شدند و با استفاده از معادله ۱ درصد کلونی‌زایی ریشه‌ها بدست آمد. این عمل برای هر تیمار، سه بار تکرار گردید و میانگین اعداد حاصل به‌عنوان درصد کلونی‌زایی ریشهٔ هر تیمار در نظر گرفته شد (Kamaei, 2014).

$$A=B/C \times 100 \qquad (1)$$

در این فرمول، A درصد کلونی ریشه؛ B مکان‌های تلاقی اندام‌های میکوریزا با شبکه و C مکان‌های تلاقی ریشه با شبکه (قسمت‌های میکوریزایی شده و قسمت‌های غیرمیکوریزایی) می‌باشد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و رسم گراف‌های مربوطه با استفاده از نرم‌افزارهای M-STAT-C و EXCEL و مقایسه میانگین به روش آزمون دانکن و در سطح احتمال معنی‌دار شده برای هر تیمار (یک یا پنج درصد) انجام شدند.

نتایج و بحث

مجموع طول ریشه

اثر متقابل سطوح میکوریزا و ریزوبیوم بر مجموع طول ریشه نخود در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین مجموع طول ریشه در تیمار کاربرد میکوریزا و ریزوبیوم (به میزان ۲۱۲۵۰ میلی‌متر) و کمترین آن در تیمار عدم مصرف میکوریزا و ریزوبیوم (به میزان ۱۲۴۲۰ میلی‌متر) بدست آمد (جدول ۳). در این پژوهش، تأثیر مثبت میکروارگانیسم‌های میکوریزا، شبه میکوریزای داخلی و ریزوبیوم در افزایش طول ریشه نخود کاملاً محسوس بود. به‌گونه‌ای که در شرایط عدم مصرف این میکروارگانیسم‌ها، طول ریشه نخود به طور چشمگیری کاهش یافت. البته ترکیب میکوریزا و ریزوبیوم در افزایش مجموع طول ریشه‌های نخود نسبت به سایر اثرات متقابل، موفق‌تر عمل کرد. مطالعات نشان داده‌اند که موجودات زنده خاک می‌توانند اثرات مفید یا آنتاگونیستی بر کارکرد قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار داشته باشند. ادعا شده است که با عرضه دو جانبه فسفر و نیتروژن برای یک گیاه میزبانِ مشترک بین قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، یک همزیستی سه گانه سینرژیستی به وجود می‌آید که اثربخشی آن بسیار بیشتر از تأثیر هم‌زیستی دوگانه‌ای است که قارچ میکوریز آرباسکولار و باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن به‌تنهایی با گیاه به وجود می‌آورند (Biro *et al*., 2000). به نظر می‌رسد که فراهمی عناصر غذایی موردنیاز، خصوصاً نیتروژن و فسفر توسط ریزجانداران ریزوبیوم و میکوریزا برای گیاه نخود و همچنین برقراری تعادل هورمونی در ریشهٔ این گیاه در افزایش طول ریشه آن موثر بوده است. چرا که برطبق مطالعات انجام شده، کمبود اکسین در ریشه‌ها سبب کاهش رشد طولی آنها گشته و تجمع بیش از حد آن در ریشه نیز بواسطهٔ تحریک سنتز اتیلن که یک هورمون بازدارنده رشد است، مانع از رشد طولی ریشه می‌گردد (Taiz and Zeiger, 2006).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه برای ریشه نخود

Table 2- ANOVA for studied traits of root chickpea

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	مجموع طول ریشه Total length of root	سطح ریشه Area of root	تعداد گره‌های ریزوبیومی Number of rhizobium nodules	کلونیزاسیون ریشه Colonization of root	وزن ریشه در بوته Root weight per plant	میانگین قطر ریشه Diameter mean of root	متوسط سرعت سبزشدن Mean Emergence Time (MGT)
نوع خاک Type of soil (A)	1	269049 ^{ns}	961936 ^{ns}	684.69 **	174.68 *	0.153 ^{ns}	0.002 ^{ns}	4.494 **
سطوح میکوریزا Levels of mycorrhiza (B)	2	109132673 **	76639552 **	16.36 ^{ns}	13588.8 **	2.631 **	0.130 **	0.012 ^{ns}
نوع خاک × سطوح میکوریزا A × B	2	2530114 ^{ns}	4238724 *	7.19 ^{ns}	1263.8 **	0.284 ^{ns}	0.010 **	0.012 ^{ns}
سطوح ریزوبیوم Levels of rhizobium (C)	1	41208268 **	22741611 **	1640.2 **	34.61 ^{ns}	0.556 *	0.029 **	0.048 ^{ns}
نوع خاک × سطوح ریزوبیوم A × C	1	2727011 ^{ns}	230832 ^{ns}	140.02 **	12.13 ^{ns}	0.047 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.012 ^{ns}
سطوح ریزوبیوم × سطوح میکوریزا B × C	2	10736798 *	9876516 *	3.08 ^{ns}	42.88 ^{ns}	0.024 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.012 ^{ns}
نوع خاک × ریزوبیوم × میکوریزا A × B × C	2	1223763 ^{ns}	214471 ^{ns}	3.02 ^{ns}	31.57 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.012 ^{ns}
خطا Error	24	2141433	1072564	10.44	32.77	0.091	0.002	0.042
کل Total	35	-	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات (٪) CV (%)	-	8.30	7.25	28.17	11.49	7.96	5.88	3.74

ns, * and **: non-significant, significant in 5% and 1% level, respectively

ns و *، **: به ترتیب، غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسات میانگین اثر متقابل سطوح میکوریزا و ریزوبیوم بر صفات ریشه نخود

Table 3- Mean comparisons for interactions in levels of mycorrhiza and rhizobium on studied traits of root chickpea

سطوح میکوریزا Levels of mycorrhiza	سطوح ریزوبیوم Levels of rhizobium	مجموع طول ریشه Total length of root (mm)	سطح ریشه Area of root (mm^2)
میکوریزای آربواسکولار Arbuscular mycorrhiza	کاربرد ریزوبیوم Using of rhizobium	21250 a	16890 a
	عدم مصرف ریزوبیوم Non-used rhizobium	19950 ab	16170 a
شبه میکوریزای داخلی Pseudo-endo mycorrhiza	کاربرد ریزوبیوم Using of rhizobium	18120 ab	14960 ab
	عدم مصرف ریزوبیوم Non-used rhizobium	17300 b	14590 ab
عدم مصرف میکوریزا Non-used mycorrhiza	کاربرد ریزوبیوم Using of rhizobium	16720 b	13390 ab
	عدم مصرف ریزوبیوم Non-used rhizobium	12420 c	9711 b

در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف مشترک، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means that have a common letter, have not significantly difference together based on Duncan's test.

سطح ریشه

اثر متقابل سطوح ریزوبیوم با میکوریزا بر سطح ریشه نخود در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). به‌طوری که بیشترین سطح ریشه در تیمار کاربرد ریزوبیوم و میکوریزا (به میزان ۱۶۸۹۰ میلی‌متر مربع) و کمترین آن در تیمار عدم مصرف ریزوبیوم و قارچ (به میزان ۹۷۱۱ میلی‌متر مربع) ملاحظه گردید. البته اختلاف معنی‌داری خفیفی از این نظر بین تیمارها وجود داشت و به غیر از تیمار عدم مصرف ریزوبیوم و قارچ، سایر تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳). همچنین اثر متقابل نوع خاک با سطوح میکوریزا بر سطح ریشه نخود در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. بیشترین سطح ریشه در تیمار خاک استریل و کاربرد میکوریزا (به میزان ۱۷۰۵۰ میلی‌متر مربع) و کمترین آن در تیمار خاک استریل و عدم مصرف قارچ (به میزان ۱۰۹۸۰ میلی‌متر مربع) ملاحظه گردید. البته بین تیمار کاربرد میکوریزا در شرایط خاک استریل و تیمارهای کاربرد میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی در شرایط خاک غیراستریل، از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). در این مطالعه مشخص گردید که میکوریزا در خاک استریل و شبه میکوریزای داخلی در خاک غیراستریل اثربخشی بهتری بر سطح ریشه نخود دارند که این موضوع احتمالاً ازیک‌طرف، به دلیل اثرات متقابل منفی میکوریزا با میکروارگانسیم‌های خاک (احتمالاً میکوریزای بومی) (Namvar, 2014) و از طرف دیگر، برهمکنش مثبت شبه میکوریزای داخلی با موجودات خاکزی باشد. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که بین گیاه نخود (به عنوان میزبانِ مشترک میکوریزا و ریزوبیوم) و قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، یک همزیستی سه گانه سینرژیستی شکل گرفته که تاثیرگذاری مثبتی بر ارتقای سطح ریشه نخود داشته است.

جدول ۴- مقایسات میانگین اثر متقابل نوع خاک و سطوح میکوریزا بر صفات ریشه نخود

Table 4- Mean comparisons for interactions in type of soil and levels of mycorrhiza on studied traits of root chickpea

نوع خاک Type of soil	سطوح میکوریزا Levels of mycorrhiza	سطح ریشه Area of root (mm^2)	کلونیزاسیون ریشه Colonization of root (%)	میانگین قطر ریشه Diameter mean of root (mm)
خاک استریل Sterilized soil	میکوریزای آرباسکولار Arbuscular mycorrhiza	17050 a	83. 65 a	0.824 a
	شبه میکوریزای داخلی Pseudo-endo mycorrhiza	14330 bc	59. 23 b	0.673 ab
	عدم مصرف میکوریزا Non-used mycorrhiza	10980 d	0. 00 d	0.564 b
خاک غیراستریل Non-sterile soil	میکوریزای آرباسکولار Arbuscular mycorrhiza	16010 ab	66. 13 b	0.772 ab
	شبه میکوریزای داخلی Pseudo-endo mycorrhiza	15210 ab	66. 80 b	0.714 ab
	عدم مصرف میکوریزا Non-used mycorrhiza	12120 cd	23. 17 c	0.615 ab

در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف مشترک، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means that have a common letter, have not significantly difference together based on Duncan's test.

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد گره‌های ریزوبیومی

اثر متقابل سطوح ریزوبیوم با نوع خاک بر تعداد گره‌های ریزوبیومی ریشه نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین تعداد گره‌های ریزوبیومی در تیمار خاک غیراستریل و کاربرد ریزوبیوم (به میزان ۲۴/۵۶ عدد) و کمترین آن در تیمار خاک استریل و عدم مصرف ریزوبیوم (به میزان ۲/۳۳ عدد) ملاحظه گردید (جدول ۵). به نظر می‌رسد که استریل کردن خاک و به دنبال آن، حذف میکروارگانیسم‌های خاکزی، می‌تواند بر تبادل ترکیبات شیمیایی بین باکتری ریزوبیوم و ریشه گیاه میزبان همچون لکتین و الیگوساکاریدها بین آنها تأثیر سوء گذاشته و این امر سبب کاهش تعداد گره‌های ریزوبیومی بر روی ریشه نخود گردد (Silvia and Frantisek, 2012). در این مطالعه علی‌رغم اینکه کاربرد ریزوبیوم سبب افزایش قابل‌توجه تعداد گره‌های ریزوبیومی ریشه نخود گردید، اما در شرایط عدم کاربرد آن نیز گره‌های ریزوبیومی بر روی ریشه نخود تشکیل شدند، هرچند که تعداد آنها در مقایسه با تیمار کاربرد ریزوبیوم بسیار ناچیز بود. این موضوع مبیّن آن است که احتمال حضور باکتری‌های بومیِ هم‌زیست نخود در خاک‌های اراضی کشاورزی و به دنبال آن شکل‌گیری گره‌های ریزوبیومی بر روی ریشه نخود وجود دارد؛ لکن تلقیح ریزوبیوم می‌تواند تعداد گره‌های ریزوبیومی ریشه را به طور چشمگیری افزایش دهد. به‌عبارت‌دیگر، کاربرد باکتری اختصاصی هم‌زیست ریشه نخود به‌صورت بذرمال در برقراری رابطه قوی‌تر همزیستی ریزوبیوم – نخود نقش بسزایی دارد. در همین راستا، خزاعی و همکاران (Khazaee *et al*., 2008) در بررسی اثر تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گرەزایی ژنوتیپ‌های دسی و کابلی نخود تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی در مرحله رشد رویشی، گره‌دار شدن ریشه‌های نخود را در تیمار شاهد (عدم تلقیح ریزوبیوم) گزارش کردند. آنها این نتیجه را به وجود نژادهای بومی ریزوبیوم در خاک نسبت دادند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع خاک و سطوح ریزوبیوم بر صفات ریشه نخود

Table 5- Mean comparisons for interactions in type of soil and levels of rhizobium on studied traits of root chickpea

نوع خاک Type of soil	سطوح ریزوبیوم Levels of rhizobium	تعداد گره‌های ریزوبیومی Number of rhizobium nodules
خاک استریل Sterilized soil	کاربرد ریزوبیوم Using of rhizobium	11.89 ab
	عدم مصرف ریزوبیوم Non-used rhizobium	2.33 b
خاک غیراستریل Non-sterile soil	کاربرد ریزوبیوم Using of rhizobium	24.56 a
	عدم مصرف ریزوبیوم Non-used rhizobium	7.11 ab

در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف مشترک، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means that have a common letter, have not significantly difference together based on Duncan's test.

میزان کلونیزاسیون ریشه

اثر متقابل نوع خاک با سطوح میکوریزا بر میزان کلونیزاسیون ریشه نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین میزان کلونیزاسیون ریشه در تیمار خاک استریل و کاربرد میکوریزا (به میزان ۸۳/۶۵ درصد) ملاحظه گردید. در سایر تیمارها میزان کلونیزاسیون ریشه حتی به ۶۷ درصد هم نرسید. کمترین میزان کلونیزاسیون ریشه نیز در تیمار خاک استریل و عدم مصرف قارچ (به میزان صفر درصد) وجود داشت (جدول ۴). در این مطالعه با استریل کردن خاک، در شرایط عدم کاربرد میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی هیچ‌گونه کلونیزاسیون ریشه مشاهده نشد. درحالی‌که در وضعیت مشابه تیمار قارچی و شرایط خاک غیراستریل، باز هم ۲۳ درصد کلونیزاسیون ریشه مشاهده شد. ظاهراً وجود سایر ریزجانداران خاکزی در کلونیزه شدن ریشهٔ نخود توسط قارچ‌های میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی مؤثرند، اگرچه این موضوع نیاز به تحقیق بیشتری دارد. همچنین نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپی نشان داد که قارچ‌های میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی با درصد نسبتاً بالایی ریشه‌های نخود را کلونیزه کردند. هرچند که موفقیت میکوریزا در این مهم، بیشتر از قارچ شبه میکوریزای داخلی بود. علاوه بر این، در خاکی که

www.SID.ir

Archive of SID

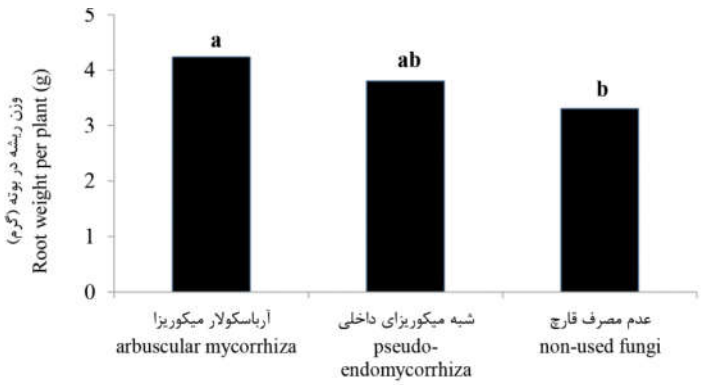
به قارچ‌های میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی آلوده نشده بود، باز هم ریشه‌ها کلونیزه شدن توسط قارچ را از خود نشان دادند، هرچند که این کلونیزاسیون درصد پایینی را به خود اختصاص داد. این موضوع به حضور میکوریزای بومی در خاک مورد بررسی نسبت داده شد. در تحقیقات علمی، ادعا شده است که کمبود فسفر در خاک، کلونیزاسیون ریشه و اسپورزایی میکوریزا را افزایش می‌دهد (Saleh Al-Khaliel, 2010)؛ لذا باتوجه‌به نتایج تجزیه خاک که حاکی از پایین بودن مقدار فسفر در خاک آزمایش بود و با عنایت به اینکه در این مطالعه، هیچ‌گونه کودی به خاک اضافه نگردید، احتمالاً یکی از دلایل مهم در بالا بودن درصد کلونیزاسیون ریشه نخود توسط قارچ‌های میکوریزا و شبه‌میکوریزای داخلی، کمبود فسفر خاک باشد. بررسی اثرات متقابل نوع خاک با سطوح میکوریزا (جدول ۴) نشان داد که میکوریزا، کلونیزه کردن ریشه نخود را در خاک استریل بهتر انجام می‌دهد که این موضوع احتمالاً ناشی از برهمکنش منفی میکوریزای استفاده شده در این پژوهش با میکوریزای بومی موجود در خاک باشد. کلونیزه شدن ریشه نخود در خاک غیراستریل توسط قارچ (احتمالاً میکوریزای بومی) در شرایط عدم مصرف میکوریزا، مویّد این ادعا است. نتایج حاصل از این مطالعه، با یافته‌های محققین دیگر در توافق است. نامور (Namvar, 2014) نیز در تحقیقات خود، کاهش کلونیزه شدن ریشه ذرت توسط میکوریزا را در خاک غیراستریل (در مقایسه با خاک استریل) و افزایش کلونیزه شدن ریشه این گیاه توسط شبه میکوریزای داخلی را در خاک غیراستریل (در مقایسه با خاک استریل) گزارش کرد. در تحقیقی دیگر، سوبرامانیان و همکاران (Subramanian *et al.*, 2013) کلونیزه شدن ریشه ذرت توسط قارچ را در شرایط عدم مصرف میکوریزا (گونهٔ *G. intraradices*) عنوان کردند. در پژوهش حاضر، میکوریزا در افزایش گره‌زایی ریزوبیوم‌ها بر روی ریشه نخود تاثیرگذار نبود و ریزوبیوم نیز در افزایش کلونیزه شدن ریشه نخود توسط قارچ‌های میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی اثری نداشت (جداول ۴ و ۵). علاوه بر این، اثرات سه‌گانه نوع خاک، سطوح میکوریزا و سطوح ریزوبیوم بر روی درصد کلونیزاسیون ریشه نخود و نیز سایر صفات مورد بررسی معنی‌دار نگردید. بااین‌حال، نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها برای سطوح میکوریزا و ریزوبیوم بر صفات سطح و مجموع طول ریشه، مبیّن اثربخشی مثبت ریزوبیوم و میکوریزا بر روی یکدیگر می‌باشد.

وزن ریشه در بوته

اثر سطوح میکوریزا بر وزن ریشه نخود در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲) و کاربرد میکوریزا سبب افزایش معنی‌دار وزن ریشه نخود گردید. اما بین تیمارهای شبه میکوریزای داخلی و عدم مصرف قارچ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱). همچنین کاربرد ریزوبیوم نسبت به شرایط عدم مصرف آن، بطور معنی‌داری و به میزان ۶/۳۹ درصد سبب افزایش وزن ریشه نخود گردید (شکل ۲). البته اثر متقابل ریزوبیوم با نوع خاک و سطوح میکوریزا بر وزن ریشه بوته نخود معنی‌دار نشد (جدول ۲). همچنین اثر متقابل نوع خاک و سطوح میکوریزا بر وزن ریشه نخود معنی‌دار نگردید (جدول ۲). عدم اثربخشی نوع خاک بر روی وزن ریشه نخود، به فقدان تأثیرگذاری استریل کردن خاک بر خصوصیات فیزیکی آن نسبت داده شد (Namvar, 2014). چنین استنباط می‌شود که میکوریزا و شبه میکوریزای داخلی به‌واسطه بهبود جذب عناصر غذایی و تحریک فعالیت هورمون‌های مؤثر در ریشه‌زایی باعث افزایش وزن ریشه نخود شده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که در ریشه‌های گیاهان میکوریزایی، طول ریشه‌ها بیشتر و انشعابات آن‌ها وسیع‌تر می‌شود و بدین طریق ریشه‌ها می‌توانند در جذب مواد غذایی کارایی بالاتری داشته باشند (Hodge *et al.*, 2001; Namvar, 2014). با افزایش جذب آب و مواد غذایی و به دنبال آن، افزایش سنتز آنزیم‌ها و پروتئین‌های مؤثر در اسیمیلاسیون و فتوسنتز برگ، اختصاص کربن به ریشه‌ها در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهانِ تلقیح نشده بیشتر می‌شود. علاوه بر این، در تحقیق حاضر، اثرات مثبت باکتری ریزوبیوم در افزایش وزن ریشه نخود مشخص گردید. گزارش‌های علمی از بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی ریشه و افزایش عملکرد گیاهان نخود تلقیح شده با باکتری اختصاصی آن حکایت دارند (Khazaee Elhadi and Elsheikh, 1999; *et al.*, 2008). کِریازوپولوس و همکاران (Kyriazopoulos *et al.*, 2014) در گزارش‌های خود بیان نمودند که کاربرد دو گونهٔ میکوریزا، در مقایسه با تیمار شاهد، سبب افزایش وزن ریشه گیاه *Dactylis glomerata* L. گردید.

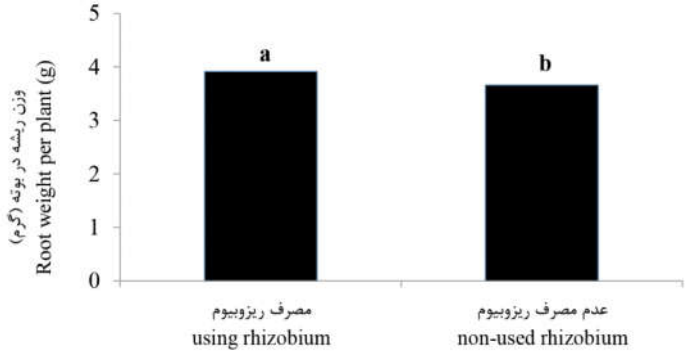
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- اثر سطوح میکوریزا بر وزن ریشه در بوته نخود

Figure 1- Effect of levels of mycorrhiza on root weight per plant in chickpea



شکل ۲- اثر سطوح ریزوبیوم بر وزن ریشه در بوته نخود

Figure 2- Effect of levels of rhizobium on root weight per plant in chickpea

میانگین قطر ریشه

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، کاربرد ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری و به میزان ۷/۸۹ درصد سبب افزایش میانگین قطر ریشه نخود گردید (جدول ۲، شکل ۳). البته اثر متقابل ریزوبیوم با نوع خاک و سطوح میکوریزا بر میانگین قطر ریشه نخود معنی‌دار نشد (جدول ۲). بااین‌وجود، اثر متقابل نوع خاک و سطوح میکوریزا بر میانگین قطر ریشه نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. به‌طوری‌که بیشترین میانگین قطر ریشه در تیمار خاک استریل – میکوریزا (به میزان ۰/۸۲۴۸ میلیمتر) و کمترین آن در تیمار خاک استریل – عدم مصرف قارچ (به میزان ۰/۵۶۴۲ میلیمتر) ملاحظه گردید (جدول ۴). به نظر می‌رسد که میکروارگانیسم‌های میکوریزا و ریزوبیوم توانسته‌اند به‌واسطه بهبود جذب عناصر غذایی توسط ریشه نخود و به دنبال آن، تجمع بخشی از آنها در ریشه و نیز اختصاص بیشتر فراورده‌های فتوسنتزی به ریشه‌ها، سبب افزایش میانگین قطر آنها گردند. علاوه بر این، برتری نسبی اثر میکوریزا بر میانگین قطر ریشه در خاک استریل، حکایت از برهم‌کنش منفی آن با سایر ریزجانداران خاکزی دارد. به بیان دیگر، حضور میکروارگانیسم‌های دیگر در اطراف ریشه‌های آلوده شده به میکوریزا باعث بروز اثرات آنتاگونیستی بر فعالیت آن می‌گردد (Namvar, 2014).

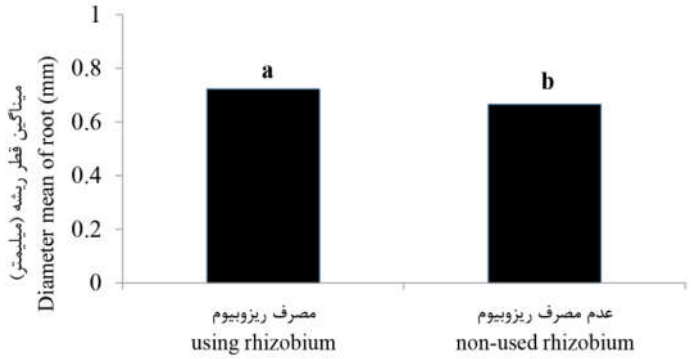
متوسط سرعت سبز شدن

اثر نوع خاک بر متوسط سرعت سبز شدن بذور نخود در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بدین ترتیب که در خاک استریل، سرعت سبزشدن بطور معنی‌داری و به میزان ۱۳/۷۵ درصد بیشتر از خاک غیراستریل بود (شکل ۴). به‌طورکلی هرچه MET کمتر باشد، نشان دهندهٔ آن است که بذور با سرعت بیشتری سبز شده‌اند (Matthews and Khajeh Hosseini, 2006). در این مطالعه، حذف کلیه میکروارگانیسم‌ها بواسطهٔ استریل کردن خاک سبب افزایش

www.SID.ir

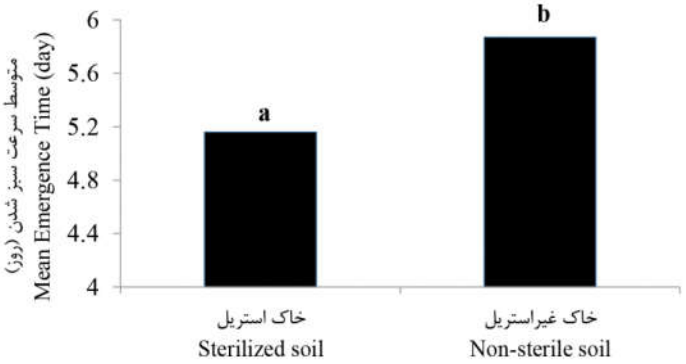
Archive of SID

سرعت سبز شدن گردید. این موضوع نشان می‌دهد که مرحله سبز شدن که طی آن گیاه در وضعیت هتروتروفی قرار داشته و وابسته به ذخایر غذایی بذر می‌باشد، در شرایط استریل و عدم وجود موجودات خاکزی بهتر انجام می‌شود. علاوه بر این، اثر سطوح میکوریزا و ریزوبیوم بر متوسط سرعت سبز شدن بذور نخود معنی‌دار نشد (جدول ۲). به نظر می‌رسد که این نتایج، مبیّن ادعای فوق مبنی‌بر افزایش سرعت سبز شدن در شرایط استریل باشند. آیکی و همکاران (Ikie *et al.*, 2006) در مطالعات خود بر روی بررسی سرعت سبز شدن گیاه سورگوم در دو خاک استریل و غیر استریل تحت تیمار بذور علف هرز علف جادو، دریافتند که حداکثر بذور سبز شدهٔ علف جادو در خاک استریل بیشتر از خاک غیراستریل بود، اما تعداد روز تا ظهور اولین گیاهچه علف جادو در خاک غیراستریل بطور معنی‌داری بیشتر از خاک استریل بود که این امر نشان دهنده پایین‌تر بودن سرعت سبز شدن این گیاه در خاک غیراستریل می باشد.



شکل ۳- اثر سطوح ریزوبیوم بر میانگین قطر ریشه نخود

Figure 3- Effect of levels of rhizobium on diameter mean of root in chickpea



شکل ۴- اثر نوع خاک بر متوسط سرعت سبز شدن ریشه نخود

Figure 4- Effect of type of soil on mean emergence time of root in chickpea

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، میکوریزا تأثیری در افزایش گره‌های ریزوبیومی ریشه نخود نداشت. همچنین ریزوبیوم تأثیر مثبتی در افزایش کلونیزه شدن ریشه نخود توسط قارچ‌های میکوریزا و شبه میکوریزا از خود نشان نداد. بااین‌وجود، نتایج مقایسه میانگین برای سطوح میکوریزا و ریزوبیوم در صفت سطح ریشه، نشان‌دهنده تأثیر مثبت ریزوبیوم و میکوریزا بر یکدیگر بود. علی‌رغم آلوده شدن ریشه‌ها توسط شبه میکوریزا، این قارچ بر خصوصیات مورد مطالعهٔ نخود تأثیری نداشت. ، تمامی خصوصیات موردمطالعه ریشه نخود توسط میکوریزا بهبود یافتند. ازاین‌رو، به نظر می‌رسد که استفاده از میکوریزا در زراعت نخود می‌تواند در بهبود ویژگی‌های ریشه نخود مؤثر باشد. به‌طورکلی، موفقیت همزیستی سه‌گانهٔ مسالمت‌آمیز بین نخود، ریزوبیوم و میکوریزا قابل دستیابی به نظر می‌رسد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

Alimadadi, A., Jansuz, M.R., Besharati, H. and Tavakol Afshari, R. 2010. Evaluate the effect of phosphate-solubilizing microorganisms, mycorrhiza and seed priming on nodulation in chickpea. *Journal of Soil Research,* 24(1): 43-51. (In Persian).

Arshadi, J. 2011. The effect of seed priming on germination and seedling growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Advances in Environmental Biology,* 5: 3030–3035.

Asadi Rahmani, H., Asgharzadeh, A., khavazi, K., Rejali, F. and Savaghebi, G.R. 2007. Soil Biological Fertility. Publication of Jahad Daneshgahi. 311 pp. (In Persian).

Baltruschant, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A.K., Kogel, A., Schafer, P. and Schwarczinger, I. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist,* 180: 501–510.

Biro, B., Koves-Pechy, K., Voros, I., Takacs, T., Eggenberger, P. and Strasser, R.J. 2000. Inter relations between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. *Applied Soil Ecology,* 15: 159-168.

Diouf, D., Diop, T.A. and Ndoye, I. 2003. Actinorhizal, mycorhizal and rhizobial symbioses: how much do we know?. *African Journal of Biotechnology,* 2: 1–7.

Elhadi, E.A. and Elsheikh, E.A.E. 1999. Effect of rhizobium inoculation and nitrogen fertilization on yield and protein content of six chickpeas (*Cicer arietinum* L.) cultivars in marginal soils under irrigation. *Nutrient Cycling in Agroecosystems,* 54: 57–63.

Farzaneh, M., Wichmann, S., Vierheilig, H. and Kaul, H.P. 2009. The effects of arbuscular mycorrhiza and nitrogen nutrition on growth of chickpea and barley. *Pflanzenbauwissenschaften,* 13: 15–22.

Ford Denison, R. and Toby Kiers, E. 2011. Life histories of symbiotic rhizobia and mycorrhizal fungi, a Review. *Current Biology,* 21: 775–785.

Ghaffari, M.R., Mirzaei, M., Ghabooli, M., Khatabi, B., Wu, Y., Zabet-Moghaddam, M., Mohammadi-Nejad, G., Haynes, P.A., Hajirezaei, M.R., Sepehri, M. and Hosseini Salekdeh, G. 2019. Root endophytic fungus (*Piriformospora indica*) improves drought stress adaptation in barley by metabolic and proteomic reprogramming. *Environmental and Experimental Botany,* 157: 197-210.

Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist,* 84: 489–500.

Haji Nia, S., Zare, M.J., Mohammadi Goltepe, A. and Rejali, F. 2011. Evaluation of the usefulness of *Piriformospora indica* endophyte fungus and *Azospirillum* bacteria in increasing wheat tolerance of Sardari cultivar to salinity stress. *Journal of Environmental Stress in Agricultural Sciences,* (4)1: 23-31. (In Persian).

Hodge, A., Campbell, C.D. and Fitter, A.H. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature,* 413: 297–299.

Ikie, F.O., Schulz, Z., Ogunyemi, S., Emechebe, A.M., Togun, A.O. and Berner, D.K. 2006. Effect of soil sterility on soil chemical properties and Sorghum performance under striga infestation. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(4): 367-371.

Izadi Darbandi, A. and Akram, L. 2012. Investigate the effect of Pyridate, bentazon and Imazethapyr herbicide on growth, nodulation and biological nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Iranian Journal of Pulses Research,* 3(1): 94-105. (In Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

Kamaei, R. 2014. Effects of plant species and biological, chemical fertilizers and manure on mycorrhiza infectiveness under greenhouse conditions. M.Sc. thesis of Faculty of Agriculture. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).

Khazaee, H.R., Parsa, M. and Hosseinpanahi, F. 2008. Effects of inoculation of Rhizobium native strains on nodulation of Kabuli and Dessi chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes in different moisture levels in vegetative stage. *Journal of Field Crop Research,* 6(1): 89-97. (In Persian).

Koocheki, A., Zand, A., Banayan, M., Rezvani Moghadam, P., Mahdavi Damghani, A., Jami Alahmadi, M. and Vesal, S. 2005. Plant Eco-physiology. Vol. 2. Publications of Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).

Kormanik, P. and McGraw, A. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots, P 37-45. In: Schenck, N.C. (Ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society St Paul, Minnesota.

Kumar, V., Sahai, V. and Bisaria, V.S. 2011. High-density spore production of (*Piriformospora indica*) a plant growth-promoting endophyte, by optimization of nutritional and cultural parameters. *Bioresource Technology,* 102: 3169–3175.

Kyriazopoulos, A.P., Orfanoudakis, M., Abraham, E.M., Parissi, Z.M. and Serafidou, N. 2014. Effects of arbuscular mycorrhiza fungi on growth characteristics of (*Dactylis glomerata* L.) under drought stress conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca,* 42(1): 132-137.

Malhotra, R.S. and Sexana, M.C. 2002. Strategies for overcoming drought stress in chickpea. *Icarda,* 17: 20-23.

Matthews, S. and Khajeh Hosseini, M. 2006. Mean germination time as an indicator of emergence performance in soil of seed lots of maize (*Zea mays*). *Seed Science and Technology*, 34(2): 339-347.

Namvar, P. 2014. Evaluation of effects of Piriformospora indica on nitrogen and phosphorus uptake in corn. M.Sc. thesis of Faculty of Agriculture. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).

Parsa Motlagh, B., Mahmudi, S., Siari, M.H. and Naghi Zadeh, M. 2011. Effect of Mycorrhiza and phosphorus fertilizer on the concentration of photosynthetic pigments and nutrients concentrations of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in saline stress conditions. *Journal of Agro-ecology,* 3(2): 233-244. (In Persian).

Ren, C.G., Kong, C.C., Wang, S.X. and Xie, Z.H. 2019. Enhanced phytoremediation of uranium-contaminated soils by arbuscular mycorrhiza and rhizobium. *Chemosphere,* 217: 773-779.

Report of crops statistics. 2016. Ministry of Agriculture. Department of programming and economic. Information and communication technology center. **(**In Persian).

Saleh Al-Khaliel, A. 2010. Effects of Arbuscular mycorrhization in sterile and Non-Sterile Soils. *Tropical Life Sciences Research,* 21: 55–70.

Sharma, A.K. 2002. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India, 407 p.

Shrimant Shridhar, B. 2012. Review: Nitrogen fixing microorganisms. *International Journal of Microbiological Research,* 3: 46–52.

Silvia, P. and Frantisek, B. 2012. Signalling and Communication in Plant Symbiosis. Springer – Verlang Berlin Heidelberg.

Singh, D.N., Massod Ali, R.I. and Basu, P.S. 2000. Genetic variation in dry matter partitioning in shoot and root influences of chickpea to drought. 3rd International Crop Science Congress 2000. Hamburg Germany.

www.SID.ir

Archive of SID

Soltani, A., Khooie, F.R., Ghassemi Golozani, K. and Moghaddam, M. 2001. A stimulation study of chickpea crop response to limited irrigation in a semiarid environment. *Agricultural Water Management,* 49: 225–237.

Stein, E., Molitor, A., Kogel, K.H. and Waller, F. 2008. Systemic resistance in *Arabidopsis* conferred by the mycorrhizal fungus (*Piriformospora indica*) requires jasmonic acid signalling and the cytoplasmic function of NPR1. *Plant Cell Physiology,* 49: 1747–175.

Subramanian, K.S., Balakrishnan, N. and Senthil, N. 2013. Mycorrhizal symbiosis to increase the grain micronutrient content in maize. *Australian Journal of Crop Science,* 7(7): 900-910.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. Sinauer Associates. Inc. Publishers.

Verma, S., Varma, A., Rexer, K., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B. and Franken, P. 1998. (*Piriformospora indica*), gen: A new root-colonizing fungus. *Mycologia,* 95: 896–903.

Zaidi, A., Saghir Khan, M. and . Amil, M.D. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *European Journal of Agronomy,* 19: 15-21.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of root traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under treatments of rhizobium, arbuscular mycorrhiza and pseudo-endomycorrhiza on conditions of sterilized and non-sterile soil

Mohammad Javad Arshadi[*1], Mahdi Parsa[2], Amir Lakzian[3], Mohammad Kafi[2]

[1]Ph.D Graduate in Crop Physiology, Department of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[2]Department of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[3]Department of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[*]Corresponding Author: Javad_arshadi24@yahoo.com

Received: 14 January 2021 Accepted: 03 February 2021 **DOI: 10.22034/csrar.2021.268645.1080**

Abstract

In order to investigate the inoculation of chickpea seeds with rhizobium, arbuscular mycorrhiza and pseudo-endomycorrhiza, an experiment was conducted, in factorial by arrangement of three factors with a completely randomized design and three replications in research greenhouse, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. First factor was consisted of two sterilized levels (put the soil at 121°C for 15^{min} in autoclave) and non-sterile soil and second factor was consisted of three levels mycorrhiza (arbuscular mycorrhiza of *Glomus mosseae*, pseudo-endomycorrhiza of *Piriformospora indica* and non-used mycorrhiza) and third factor was consisted of two rhizobium levels (using rhizobium strain of *Mesorhizobium ciceri* and non-used rhizobium). The results indicated that mycorrhiza significantly increased weight, area and root colonization. But effect of mycorrhiza wasn't significant on number of rhizobium nodules. Application of rhizobium significantly increased weight, area and number of rhizobium nodules. But effect of rhizobium wasn't significant on root colonization. In conditions of non-sterile soil, number of rhizobium nodules and root colonization were significantly increased. In study of interactions was found that in condition of using mycorrhiza in sterile soil in traits of area and root colonization, were assigned the highest rate compared to other treatments. The combined application of mycorrhiza and rhizobium was caused significant superiority in length and area of roots. Using rhizobium in non-sterile soil conditions than non-using rhizobium and sterile soil, increased number of rhizobium nodules significantly at the rate of 90.5%. It seems that the use of mycorrhiza in chickpea cultivation can be effective to improve root characteristics.

Keywords: Area of root, Autoclave, Rhizobium nodules, Root colonization

www.SID.ir