نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد ۳، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۱۸-۱۰۵، نیمهٔ اول ۱۳۹۱

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 3, No. 1, 2012, p. 105-118

تأثیر علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر بر رشد، گره‌زایی و تثبیت‌زیستی نیتروژن در نخود (*Cicer arietinum* L.)

ابراهیم ایزدی دربندی[۱] و لیلا اکرم[۲*]

۱- عضو هیئت علمی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸/۰۹

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر بر رشد، گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن در گیاه نخود، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۸۹ در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل کاربرد سه علف‌کش پیریدات، بنتازون و ایمازتاپیر در مقدارهای توصیه‌شده (به‌ترتیب ۱۲۰۰، ۷۲۰ و ۷۵گرم مادهٔ مؤثره در هکتار)، دو سطح تلقیح و عدم‌تلقیح بذور نخود با باکتری *Mesorhizobiom ciceri*، دو سطح استریل و عدم‌استریل خاک بودند. کاشت بذور در گلدان‌هایی به قطر۱۰سانتی‌متر انجام شد و سپس علف‌کش‌های پیریدات در زمان پس از کاشت و قبل از سبزشدن و بنتازون و ایمازتاپیر در مرحلهٔ سومین برگ شانه‌ای به‌کار برده شدند. در۴۰روز پس از کاربرد علف‌کش‌ها (مرحلهٔ شروع گلدهی) شاخص‌های زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت وزن‌خشک ریشه به اندام هوایی، تعداد گره‌های تثبیت نیتروژن ریشه، وزن‌خشک گره‌ها و نیتروژن کل تثبیت‌شده در گیاه، اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، تعداد و وزن‌خشک گره ریشه را به‌ترتیب ۲۵درصد و۲۰درصد افزایش داد. استریل‌کردن خاک به‌طور معنی‌داری ($P<0.01$) باعث کاهش تعداد گره تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، وزن‌خشک گره، نیتروژن کل تثبیت‌شده و نسبت وزن‌خشک ریشه به اندام هوایی شد. کاربرد همهٔ علف‌کش‌ها منجر به کاهش معنی‌داری ($P<0.01$) در همهٔ شاخص‌های مذکور شدند و در بین آنها، علف‌کش بنتازون بیشترین تأثیر را بر پارامترهای فوق داشت، به‌طوری‌که کاربرد آن، زیست‌تودهٔ ریشه و اندام هوایی نخود را به‌ترتیب۸۰درصد و ۷۳درصد و تعداد و وزن گره‌ها را به‌ترتیب ۹۳درصد و۹۷درصد کاهش داد. با وجود این‌که علف‌کش پیریدیت کمترین تأثیر را بر تعداد و وزن‌خشک گره‌ها و نیتروژن تثبیت‌شده داشت، به‌طور معنی‌داری باعث کاهش زیست‌تودهٔ خشک ریشه و ساقه شد. بر اساس نتایج حاصل، علف‌کش ایمازاتاپیر با وجود این که اثر نامطلوب کمتری بر وزن‌خشک ریشه و اندام هوایی داشت، بیشترین تأثیر را بر تعداد و وزن‌خشک گره داشت.

واژه‌های کلیدی: باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، تعداد و وزن خشک گره، زیست‌توده، نخود

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.) سومین حبوبات مهم دنیا و با تولید جهانی معادل ۸میلیون‌تُن می‌باشد. این مقدار تولید در مساحتی حدود ۱۰/۳۵میلیون هکتار و با عملکرد متوسط ۷۷۳کیلوگرم در هکتار حاصل می‌شود. قارهٔ آسیا، ۸۸درصد تولید و ۹۱درصد سطح زیرکشت نخود را به‌خود اختصاص داده است. سطح زیرکشت نخود در ایران، ۷۵۰هزارهکتار می‌باشد و با تولید۳۰۰هزارتُن و عملکرد متوسط ۴۰۷کیلوگرم در هکتار در بین حبوبات، مقام اول را دارد. با توجه به اهمیت این محصول در کشور و سبد غذایی مردم، در دو دههٔ اخیر، سطح زیرکشت و تولید آن به‌ترتیب پنج‌برابر و سه‌برابر افزایش یافته است. ویژگی‌های منحصربه‌فرد نخود ازجمله بهبود خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی خاک و باروری آن(1993) Doughton *et al.*، درصد پروتئین بالا، ایجاد وقفه در چرخهٔ زندگی آفات و بیماری‌ها و علف‌های‌هرز و همچنین تثبیت زیستی نیتروژن، باعث شده است که در بین گیاهان زراعی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار باشد و یکی از مهم‌ترین اجزای تناوب زراعی محسوب شود (Peoples *et al.*, 1992). همانند سایر گیاهان زراعی، مهم‌ترین هدف تولید نخود، حصول حداکثر عملکرد و کیفیت

* **نویسنده مسئول:** تبریز، زعفرانیه، ایستگاه مدرسه، ۱۰متری اول شرقی، پلاک۱۴، طبقه دوم، تلفن: ۰۴۱۱۳۲۹۲۹۱۵، همراه: ۰۹۱۴۳۰۹۸۹۳
le_akram@yahoo.com

می‌باشد. عمدهٔ کشت این گیاه، به‌صورت دیم پاییزه بوده و به‌دلیل سرعت رشد اندک، ارتفاع کم و نیز عدم پوشش کافی زمین، توان رقابتی اندکی با علف‌های‌هرز دارد؛ لذا کنترل علف‌های‌هرز در نخود، از مهم‌ترین مشکلات کشت‌وکار و تولید آن به‌شمار می‌رود، به‌طوری‌که در صورت عدم کنترل و یا مدیریت ضعیف علف‌های‌هرز، تلفات عملکرد آن در اثر رقابت به بیش از ۵۰درصد و گاهی تا ۸۰درصد نیز می‌رسد (Parsa & Bagheri, 2008). برای کنترل و مدیریت علف‌های‌هرز نخود راه‌های گوناگونی از جمله وجین‌دستی، استفاده از ادوات خاک‌ورزی، اصلاح روش‌های کاشت و کاربرد علف‌کش‌ها پیشنهاد شده است. از آنجایی که جنبه‌های اقتصادی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در انتخاب روش کنترل علف‌های‌هرز محسوب می‌شود، لذا امروزه استفاده از علف‌کش‌ها به‌عنوان آسان‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش برای کنترل علف‌های‌هرز در اغلب محصولات زراعی ازجمله نخود به‌شمار می‌رود و برای این منظور، علف‌کش‌های مختلفی در جهان و ایران به ثبت رسیده است (Parsa& Bagheri, 2008). باوجود تمام مزیت‌های نسبی کاربرد علف‌کش‌ها نسبت به سایر روش‌های کنترل علف‌های‌هرز، آلودگی‌های زیست‌محیطی، تأثیر سوء این مواد بر موجودات زنده و اختلال در فرایندهای طبیعی اکوسیستم‌ها از مهم‌ترین تبعات کاربرد این مواد شیمیایی کشاورزی به‌شمار می‌روند (Matthews, 2008). همزیستی باکتری‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن با بقولات از مهم‌ترین فرایندهای طبیعی است که نقش مهمی در بقاء، ثبات و توالی بسیاری از اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی دارد و بر اساس بررسی‌های انجام‌شده، این فرایندها می‌تواند تحت‌تأثیر کاربرد نهاده‌های کشاورزی به‌ویژه علف‌کش‌ها قرار گیرد (Singh & Wright, 1999).

علف‌کش‌ها به چندین روش می‌توانند همزیستی لگوم-ریزوبیوم را تحت تأثیر قرار دهند. این آفت‌کش‌ها با تأثیر مستقیم بر رشد گیاه، تثبیت نیتروژن را متأثر می‌سازند و یا از طریق تأثیر مستقیم بر بقاء و رشد ریزوبیوم‌ها، توانایی آنها را برای همزیستی با گیاهان میزبان کاهش می‌دهند (Anderson *et al*., 2004; Eberbach, 1993; Martensson & Nilsson, 1989). از دیگر اثرات علف‌کش‌ها بر همزیستی لگوم-ریزوبیوم، ممانعت از تشکیل سیگنال‌های بیوشیمیایی بین ریزوبیوم‌ها و گیاهان میزبان و نیز کاهش توانایی تقسیم سلولی در ریشهٔ گیاه جهت تشکیل گره می‌باشد که در نتیجه، تثبیت‌زیستی نیتروژن را مختل می‌کند (Anderson *et al.,* 2004; Eberbach, 1993).

گزارش شده است که علف‌کش‌های تربوترین، تربوتیلازین، تریازین، سیمازین، پرومترین و بنتازون بر رشد، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن نخود، تأثیر شدیدی داشته‌اند و منجر به کاهش گره‌زایی و رشد ریشه، اندام‌های‌هوایی، سطح برگ، ذخیرهٔ مواد حاصل از فتوسنتز برای گره‌ها و کل نیتروژن تثبیت‌شده در نخودفرنگی می‌شوند (Wright & Singh, 1999). Douglas & Eberbach (1989) در مطالعات خود بیان کردند که کاربرد علف‌کش‌های گلایفوسیت، پاراکوات، دایکوات و کلروسولفورون، منجر به کاهش معنی‌داری در بقای باکتری *Rhizobium trifolii* شده‌اند. Aamil (2002) نیز در بررسی‌های خود گزارش کرد که کاربرد علف‌کش‌های پندیمتالین، ایزوپروتورون و فلوکلورالین به مقدار قابل‌توجهی بقای باکتری *Mesorhizobium ciceri* را در خاک کاهش دادند. با وجود این که در اغلب مطالعات انجام‌شده، بر تأثیر سوء کاربرد علف‌کش‌ها بر رشد باکتری‌ها و همزیستی آنها با بقولات اشاره شده است، گزارش‌های ضدونقیضی هم در این ارتباط وجود دارد. Anderson *et al*. (2004) در یک مطالعهٔ آزمایشگاهی مشاهده کردند که علف‌کش کلروسولفورون حتی در دوبرابر مقدار توصیه‌شده، رشد ریزوبیوم‌ها را تحت تأثیر قرار نداد، اما توانایی آنها را برای تشکیل گره، کاهش داد. براساس ارزیابی چشمی به‌فاصلهٔ ۲ و ۱۵روز پس از سم‌پاشی پس‌رویشی، تیمارهای کاربرد پس‌رویشی زودهنگام بنتازون، اثر گیاه‌سوزی شدیدی روی گیاه زراعی نخود بر جای گذاشت. Martensson (1992) و Mousavi (2010) نیز گزارش کردند که در حضور علف‌کش کلروسولفورون، رشد نژادهای مختلف ریزوبیوم به‌جُز در سطوح بالاتر از مقادیر کاربرد آن، تحت تأثیر قرار نگرفت و حضور کلروسولفورون، تأثیری بر فعالیت و توانایی گره‌زایی باکتری‌های ریزوبیوم نداشت. *et al*. Gonzalez (1996) نیز نتایج مشابهی را ارائه کرده‌اند. موارد مذکور نشان می‌دهد که بسته به نوع علف‌کش، شرایط محیطی و خاکی، اثرات متفاوت و متناقضی در رفتار همزیستی باکتری-لگوم مشاهده می‌شود.

در ایران، کاربرد علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های‌هرز مزارع نخود، به‌طور گسترده معمول نیست. با وجود این، به‌دلیل بالابودن هزینهٔ سایر روش‌ها در کنترل علف‌های‌هرز، گرایش به سمت کاربرد علف‌کش‌ها در حال افزایش است و از این رو تحقیقات برای معرفی علف‌کش‌هایی برای این منظور متمرکز شده‌اند (Mousavi *et al*., 2010). از آنجا که در ارتباط با اثرات کاربرد علف‌کش‌ها بر همزیستی باکتری‌های تثبیت‌کنندهٔ

نیتروژن با ارقام نخود و تثبیت‌زیستی نیتروژن، مطالعات اندکی در کشور صورت گرفته‌است، این تحقیق با هدف ارزیابی اثرات علف‌کش‌های پیریدات، بنتازون و ایمازتاپیر بر رشد، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در نخود انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۹ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل کاربرد علف‌کش‌های پیریدیت۶۰درصد، بنتازون۴۸درصد و ایمازتاپیر۱۰درصد به‌ترتیب با مقادیر کاربرد ۱۲۰۰، ۷۲۰ و ۷۵ گرم مادهٔمؤثره در هکتار، تلقیح بذور نخود با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن (*Mesorhizobium ciceri*) در دو سطح (تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده) و وضعیت استریل خاک در دو سطح (خاک استریل‌شده و استریل‌نشده) بودند که همراه با تیمار شاهد (بدون کاربرد علف‌کش) بودند. به‌منظور سترون‌کردن خاک، پس از تهیهٔ خاکی به نسبت ۱:۳ (خاک: ماسه) آن را درون کیسه‌های متقالی ریخته و پس از انتقال به اتوکلاو، به‌مدت ۳۰دقیقه در دمای ۱۲۰درجهٔ سانتی‌گراد و در دو مرحله، عملیات سترون‌کردن خاک انجام شد (Nesari *et al*., 2009). بافت خاک، رسی و با اسیدیتهٔ قلیایی ضعیف بود. پس از تهیه خاک، رقمILC482 نخود به تعداد شِش بذر در داخل گلدان‌هایی به قطر ۱۰سانتی‌متر و در عمق مناسب کشت شدند. در تیمارهایی که نیاز به تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن بود، عمل تلقیح بذور مربوطه با کود زیستی نخود، محصول مؤسسهٔ فن‌آوری زیستی مهرآسیا، حاوی باکتری *Mesorhizobium ciceri* (باکتری اختصاصی تلقیح بذور نخود جهت تثبیت زیستی نیتروژن)، طبق دستورالعمل درج‌شده بر روی جعبهٔ کودِ زیستی انجام شد. برای این منظور، بذور به نسبت توصیه‌شده در برچسب (۱کیلوگرم کود برای۸۰کیلوگرم بذر نخود) با کود زیستی حاوی باکتری، تلقیح شدند. بر اساس دستورالعمل، ابتدا مادهٔ چسباننده باکتری به بذر، موجود در جعبه را در مقدار معینی آب، حل کرده و سپس بذور را به آن اضافه نموده و جهت آغشته‌شدن بذور به مادهٔ چسباننده، ظرف را تا مدتی تکان داده و پس از آن، کود زیستی به مخلوط حاصل اضافه شد. ظرف، آن‌قدر تکان داده شد تا کود زیستی به‌طور یکنواخت بر روی بذور قرار گیرد. بذور تلقیح‌شده، بلافاصله در گلدان‌ها کشت شدند. پس از عملیات کاشت، برای اطمینان از سبزشدن بذور، با تعیین ظرفیت زراعی خاک، گلدان‌ها با نسبت یکسان، آبیاری شده و در طول آزمایش، رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی حفظ شد. یک‌هفته پس از سبزشدن بذور، گیاهان هر گلدان، تنک و تراکم آنها به سه‌بوته در هر گلدان رسانده شد. برای کاربرد علف‌کش‌ها، از سم‌پاش کتابی مدل ماتابی پلاس با نازل تی‌جت شمارهٔ۸۰۰۱، نصب‌شده بر روی یک ریل و با سرعت حرکت ثابت، استفاده شد. سم‌پاشی با نسبت ۲۵۰لیتر آب در هکتار، انجام شد. برای این منظور، علف‌کش پیریدیت به‌صورت پیش‌رویشی و دو روز پس از کاشت نخود و علف‌کش‌های بنتازون و ایمازتاپیر به‌صورت پس‌رویشی در مرحلهٔ ظهور سومین برگ شانه‌ای نخود به‌کار برده شدند. گیاهان تا ۴۰روز پس از سبزشدن نخود که مصادف با ظهور جوانه‌های گل بود، نگهداری شدند و سپس برای تحلیل نتایج حاصل، صفات مربوط به رشد شامل درصد بقای بوته‌ها، ارتفاع گیاهان، زیست‌تودهٔ ریشه و اندام‌های هوایی، نسبت ریشه به ساقه و نیز شاخص‌های مربوط به تثبیت‌زیستی نیتروژن شامل تعداد و وزن خشک گره‌ها و نیتروژن کل گیاه (به‌روش کجلدال) اندازه‌گیری شدند (Iswaran & Marwah, 1980). برای این منظور پس از خاک‌شویی ریشه، گیاهان حاصل در داخل کیسه‌های نایلونی به آزمایشگاه انتقال یافتند. در آزمایشگاه، ریشه در محل یقه از اندام هوایی جدا شد. ارتفاع گیاهان به‌وسیلهٔ خط‌کش اندازه‌گیری گردید. سپس تعداد گره‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن در ریشهٔ هر یک از نمونه‌ها به‌دقت شمارش شد. در ادامه، نمونه‌ها به تفکیک ریشه و اندام‌های هوایی، داخل پاکت‌های کاغذی قرار داده شده و در آون در دمای۷۰درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ساعت خشک شدند. وزن خشک نمونه‌ها به‌وسیلهٔ ترازویی با دقت هزارم گرم اندازه‌گیری شد. پس از حصول داده‌های آزمایشی، برای تجزیهٔ واریانس آنها از نرم‌افزار MINITAB R13 استفاده شد و مقایسات میانگین به‌روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و در سطح احتمال ۵درصد انجام شد. برای رسم شکل‌ها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس داده‌های آزمایش، تلقیح بذور نخود با باکتری مزوریزوبیوم، تأثیر معنی‌داری ($P<0.01$) بر زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه، تعداد گره‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن در ریشه، وزن خشک گره‌ها و نیتروژن کل تثبیت‌شده داشت (جدول۱). بر این اساس، تلقیح بذور نخود با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، زیست‌تودهٔ خشک ریشه، زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

نخود را به‌ترتیب ۱۹درصد، ۲۴درصد و ۱۵درصد افزایش داد (شکل۱). از سوی دیگر، میانگین تعداد گره‌های تشکیل‌شده در ریشه، وزن‌خشک گره‌ها و نیتروژن کل تثبیت‌شده در تیمار بذور تلقیح‌شده با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن نسبت به شرایط عدم تلقیح بذور، به‌ترتیب ۲۵درصد، ۲۰درصد و ۳درصد بیشتر بود (جدول ۲). از آنجا که تثبیت نیتروژن توسط نخود، ارتباط مستقیمی با تعداد و وزن خشک گره‌های تشکیل‌شده دارد، به‌نظر می‌رسد تأثیر تلقیح بذور نخود بر شاخص‌های مذکور، منجر به افزایش تثبیت نیتروژن شده است. در همزیستی نخود با باکتری مزوریزوبیوم، عملکرد گیاه، مقدار نیتروژن و وزن‌خشک گره، پس از تلقیح با میکروارگانیسم‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، افزایش می‌یابد (Koutroubas *et al*., 2009; Soleimani & Asgharzadeh, 2010). همچنین، روابط معنی‌داری بین عملکرد بیولوژیک نخود و مقادیر نیتروژن تثبیت‌شده، گزارش شده است (Kumar & Goh, 2000).

جدول ۱- میانگین مربعات (MS) مربوط به صفات اندازه‌گیری‌شدهٔ نخود حاصل از تجزیهٔ واریانس داده‌های آزمایش

Table 1. Means of square (MS) of chickpea parameters, resulted from analysis of variances

Source of variation	df	%Su	RDW	ShDW	R/Sh	Nno	NDW	%N
T (Herbicide)	3	16657^{**}	2.45^{**}	1.61^{**}	1.13^{**}	2512^{**}	14059^{**}	0.72^{**}
I (Inoculation)	1	3111^{**}	0.3^{**}	0.82^{**}	0.22^{**}	176^{**}	446^{**}	0.01^{**}
S (soil strile)	1	1554^{*}	0.11^{*}	0.01^{ns}	0.22^{**}	2919^{**}	2717^{**}	0.06^{**}
T*I	3	363^{ns}	0.09^{*}	0.15^{*}	0.32^{**}	157^{**}	281^{**}	0.028^{**}
T*S	3	665^{*}	0.29^{**}	0.55^{**}	0.17^{**}	1358^{**}	4648^{**}	0.13^{**}
I*S	1	276^{ns}	0.014^{ns}	0.01^{ns}	0.19^{*}	218^{**}	1064^{**}	0.01^{**}
T*I*S	3	0.4^{ns}	0.012^{ns}	0.008^{ns}	0.09^{*}	119^{**}	1056^{**}	0.35^{**}
Error	48	219.8	0.025	0.038	0.027	10.5	24.1	0.001
C.V.		20.28	23.15	23.18	22.36	27.56	19.82	2.57

T: تیمار علف‌کش؛ I: تیمار تلقیح با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن؛ S: تیمار استریل خاک؛ %Su: درصد بقای اندام هوایی؛ RDW: زیست‌تودهٔ خشک ریشه (گرم)؛ ShDW: زیست‌تودهٔ خشک اندام‌هوایی (گرم)؛ R/Sh: نسبت وزن‌خشک ریشه به ساقه؛ Nno: تعداد گره؛ NDW: وزن‌خشک گره (میلی‌گرم)؛ %N: درصد نیتروژن تثبیت‌شده در کل گیاه؛ df: درجه‌آزادی؛ MS: میانگین مربعات

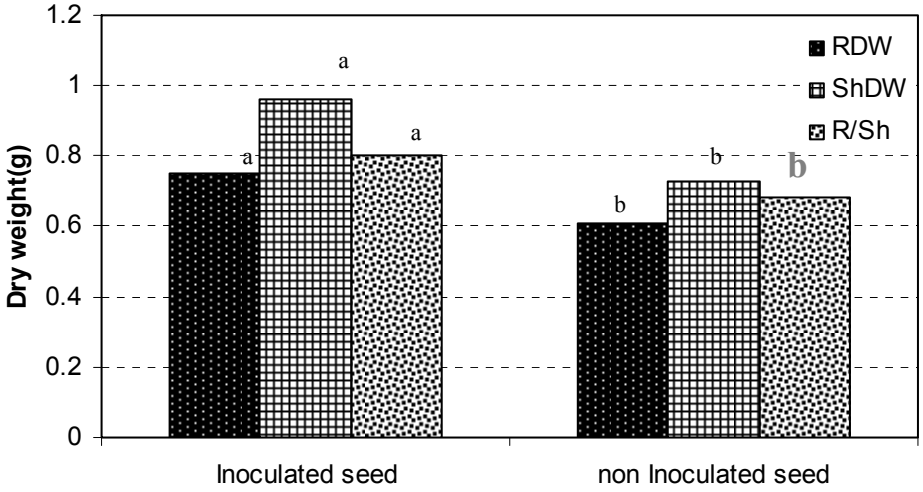
** و *: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱درصد و ۵درصد؛ ns: عدم معنی‌دار.

T: herbicide application; I: seed inoculation; S: soil sterile; %Su: plant survival; RDW: root dry weight (g); ShDW: shoot dry weight(g); R/Sh: root/shoot ratio; Nno: nodule number; NDW: nodule dry weight (mg); %N: nitrogen fixation

ns, * and ** represent non-significant and significantly difference at 5 and 1% levels, respectively.

نتایج حاصل از این آزمایش نیز با این فرضیه مطابقت دارد. Sandhu *et al*. (1991) گزارش کردند که در گیاهان عدس که عملیات تلقیح بذور روی آنها انجام شده بود، تعداد و وزن‌خشک گره‌ها، بیشتر و نیز رشد بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده مشاهده شد. منابع متعدد بیانگر این هستند که استفاده از کود بیولوژیک و تلقیح بذور، باعث افزایش زیست‌تودهٔ خشک گیاه شده است (Anderson *et al*., 2004).

استریل‌کردن خاک نیز تأثیر معنی‌داری بر زیست‌تودهٔ خشک ریشه ($p<0.05$)، نسبت وزن‌خشک ریشه به اندام هوایی، تعداد گره‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، وزن‌خشک گره‌ها و درصد نیتروژن کل تثبیت‌شده ($p<0.01$) داشت (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل، زیست‌تودهٔ خشک ریشه در تیمار خاک استریل‌شده،۱۱درصد بیشتر از خاک استریل نشده‌بود و نسبت وزن‌خشک ریشه به وزن‌خشک اندام هوایی که شاخصی برای بررسی عکس‌العمل گیاه به شرایط محیطی موجود به‌خصوص تنش‌های مختلف می‌باشد، در خاک استریل‌شده حدود ۱۵درصد افزایش یافت. از آنجایی که در خاک استریل‌شده، کلیهٔ میکروارگانیسم‌های مفید خاک از بین می‌روند و شرایط برقراری همزیستی بین ریشه گیاه و میکروارگانیسم‌های مفید محدود می‌شود، لذا این مسأله می‌تواند بر جذب عناصر توسط ریشهٔ گیاه، تأثیر گذاشته و به‌عنوان نوعی تنش مطرح باشد؛ به‌طوری‌که معمولاً در گیاهان تحت تنش‌های محیطی، نسبت ریشه به ساقه افزایش می‌یابد (KafI & Mahdavi damghani, 2000). از این رو به‌نظر می‌رسد افزایش نسبت ریشه به ساقهٔ نخود، ناشی از این امر باشد. بر اساس نتایج آزمایش، میانگین تعداد گره‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن در خاک استریل‌نشده، ۷۳درصد بیشتر از میانگین تعداد گره ریشه در تیمار خاک استریل‌شده بود. استریل خاک بر روی وزن‌خشک گره‌ها نیز اثر معنی‌داری ($P<0.01$) داشت، به‌طوری‌که میانگین وزن‌خشک گره‌ها در تیمار عدم‌استریل خاک، ۴۲درصد بیشتر از خاک استریل‌شده بود. میانگین درصد نیتروژن کل تثبیت‌شده در گیاه نخود نیز تحت تأثیر ($P<0.01$) استریل‌کردن خاک قرار گرفت، به‌طوری‌که استریل خاک باعث کاهش ۷درصدی در نیتروژن تثبیت‌شده در نخود شد.



شکل۱- اثر تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن بر زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت وزن‌خشک ریشه به ساقه در نخود

Fig. 1. Effect of seed inoculation with nitrogen fixation bacteria on chickpea root dry weight, shoot dry weight and root/shoot ratio

RDW: زیست‌تودهٔ خشک اندام‌های زیرزمینی؛ ShDW: زیست‌تودهٔ خشک اندام‌های هوایی؛ R/Sh: نسبت وزن‌خشک ریشه به ساقه؛
Inoculated seed: بذور تلقیح‌شده؛ non inoculated seed: بذور تلقیح‌نشده؛
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).
RDW: Root dry weight; ShDW: Shoot dry weight; R/Sh: Root/shoot ratio; Means by the uncommon letters are significantly different ($p<0.01$).

جدول ۲- اثر تلقیح و عدم‌تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن بر تعداد گره، وزن‌خشک گره و درصد نیتروژن تثبیت‌شده در نخود

Table 2. Effect of seed inoculation on nodule number, nodule dry weight and nitrogen percent in chickpea

وضعیت تلقیح Inoculation	تعداد گره Nodule number	وزن‌خشک گره Nodule dry weight (mg)	درصد نیتروژن Nitrogen percent
I تلقیح‌شده	13.4 a	27 a	1.25 a
NI تلقیح‌نشده	10 b	22 b	1.22 b

در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).
I: Inoculated seeds; NI: Non inoculated seeds
Means by uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.01$).

با توجه به این‌که استریل خاک، تعداد و وزن‌خشک گره‌ها را کاهش داد، کاهش درصد نیتروژن تثبیت‌شده توسط گیاه در خاک مذکور، دور از ذهن نیست. به‌نظر می‌رسد علت این امر، از بین‌رفتن باکتری‌های مفید موجود در خاک در اثر استریل‌کردن آن باشد. اثر متقابل تیمار تلقیح بذور نخود با باکتری و استریل خاک بر روی تعداد و وزن‌خشک گره و نیتروژن تثبیت‌شده، معنی‌دار ($p<0.01$) بود (جدول۱). میانگین تعداد گره، وزن‌خشک گره و نیتروژن تثبیت‌شده در تیمار بذور تلقیح‌شده با باکتری و خاک استریل‌نشده، به‌ترتیب حدود ۷۸درصد، ۵۵درصد و۱۰درصد بیشتر از موارد فوق در تیمار بذور تلقیح‌شده و خاک استریل‌شده بود (جدول ۴).

به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که استریل‌کردن خاک در شرایطی که بذور با باکتری تلقیح شده‌اند، باعث کاهش همزیستی نخود-باکتری می‌شود. در شرایطی که بذور با باکتری تلقیح نشده بودند نیز تعداد گره، وزن‌خشک گره و نیتروژن تثبیت‌شده در حالت خاک استریل‌نشده به‌ترتیب حدود ۶۵درصد، ۱۹/۵درصد و ۳درصد بیشتر از خاک استریل‌شده بود.

جدول ۳- اثر استریل خاک بر وزن‌خشک و تعداد گره، درصد نیتروژن تثبیت‌شده و نسبت وزن‌خشک ساقه به ریشه در نخود
Table 3. Effect of soil strilization on chickpea nodule dry weight, nodule number, nitrogen percent and root/shoot ratio

صفات parameters					وضعیت خاک
درصد نیتروژن Nitrogen percent	وزن‌خشک گره Nodule dry weight (mg)	تعداد گره Nodule number	وزن خشک ریشه Root dry weight	ساقه/ریشه R/Sh	Soil condition
1.20 b	18.1 b	5.0 b	0.72 a	0.80 a	Sterile استریل‌شده
1.27 a	31.4 b	18.5 a	0.64 b	0. 68 b	Non sterile استریل‌نشده

در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).
Means by uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.01$).

جدول ۴- اثر متقابل تلقیح بذور و استریل خاک بر تعداد و وزن‌خشک گره و درصد نیتروژن در نخود
Table 4. Interaction of seed inoculation and soil sterile on nodule number, nodule dry weight and nitrogen percent

صفات parameters			استریل خاک Sterile	تلقیح بذور Inoculation
درصد نیتروژن Nitrogen percent (%)	وزن‌خشک گره Nodule dry weight (mg)	تعداد گره Nodule number		
1.17 c	16.8 c	4.8 c	استریل‌شده S	تلقیح‌شده I
1.27 a	38 a	22 a	استریل‌نشده NS	
1.23 b	19.7 c	5.2 c	استریل‌شده S	تلقیح‌نشده NI
1.26 a	24.5 b	15 b	استریل‌نشده NS	

در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).
I: Inoculated seeds; NI: Non inoculated seeds; S: Sterile soil; NS: Non sterile soil
Means by uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.01$).

بیشتر نیتروژن تثبیت‌شده توسط مزوریزوبیوم در اختیار گیاه میزبان قرار می‌گیرد و باعث افزایش غلظت نیتروژن به‌خصوص در اندام‌های هوایی گیاه می‌شود (Marschner, 1995). در این ارتباط، گزارش شده است که درصد نیتروژن و درصد پروتئین دانهٔ نخود دیم با تلقیح بذور با باکتری و مصرف کود نیتروژن، افزایش یافته است (Soleimani & Asgharzadeh, 2010).

با توجه به نتایج آزمایش، کاربرد علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر، تأثیر معنی‌داری ($p<0.01$) بر درصد بقاء، زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت وزن‌خشک ریشه به ساقه، تعداد گره تثبیت نیتروژن در ریشه، وزن‌خشک گره و درصد نیتروژن کل تثبیت‌شده در نخود داشت (جدول ۱). با توجه به نتایج حاصل از مقایسات میانگین، بالاترین درصد بقاء، مربوط به تیمار شاهد (عدم کاربرد علف‌کش) بود و در بین سه علف‌کش به‌کار برده شده، علف‌کش ایمازتاپیر نسبت به شاهد، اثر معنی‌داری ($p<0.01$) بر درصد بقای نخود نداشت، اما دو علف‌کش پیریدات و بنتازون به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) باعث کاهش درصد بقای نخود شدند، به‌طوری‌که علف‌کش‌های مذکور به‌ترتیب باعث کاهش ۲۵ و ۷۱درصدی بقای نخود نسبت به شاهد شدند (جدول ۵).

در اثر کاربرد علف‌کش‌ها در این آزمایش، زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی نخود به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) کاهش یافتند. بر اساس نتایج حاصل، بیشترین تأثیر منفی بر صفات مذکور، در اثر کاربرد علف‌کش بنتازون مشاهده شد، به‌طوری‌که این علف‌کش به‌ترتیب باعث کاهش ۸۰و ۷۳درصدی زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی نخود شد. دو علف‌کش پیریدات و ایمازتاپیر، اختلاف معنی‌داری ($p<0.01$) بر زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی نخود نداشتند. همچنین در بین سه علف‌کش مذکور، علف‌کش ایمازتاپیر کمترین تأثیر را بر زیست‌تودهٔ خشک ریشهٔ نخود داشت (جدول ۵). در این ارتباط، Nesari *et al*. (2009) گزارش کردند که در اثر کاربرد ۱۰۰ و ۱۲۵درصد مقدار توصیه‌شدهٔ علف‌کش متریبیوزین، وزن‌خشک

ریشهٔ نخود به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. Datta *et al*. (2009) نیز در مطالعات خود گزارش کردند که مقدار توصیه‌شدهٔ علف‌کش ایزوکسافلوتول در واریته‌های حساس نخود، به‌ترتیب باعث کاهش ۲۲ و ۵۰درصدی وزن‌خشک ساقه و ریشهٔ نخود شد. در آزمایشی دیگر، ۱۰درصد مقدار توصیه شدهٔ علف‌کش کلروسولفورون، زیست‌تودهٔ ریشه و اندام هوایی و حجم ریشهٔ گیاه نخود را کاهش داد و منجر به کاهش توانایی گیاه در جذب مواد غذایی از خاک شد (Anderson *et al*., 2004).

نسبت وزن‌خشک ریشه به ساقه نیز تحت‌تأثیر کاربرد علف‌کش‌ها قرار گرفت. هر سه علف‌کش به‌کاررفته باعث کاهش معنی‌دار ($p<0.01$) این صفت نسبت به تیمار شاهد شدند. بین دو علف‌کش پیریدیت و بنتازون از این نظر، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، به‌طوری‌که این دو علف‌کش به‌ترتیب باعث کاهش ۳۷ و ۵۷درصدی نسبت ریشه به ساقهٔ نخود در مقایسه با شاهد شدند و در بین علف‌کش‌های مذکور، ایمازتاپیر کمترین تأثیر را بر نسبت وزن‌خشک ریشه به ساقهٔ نخود داشت (جدول ۵). با توجه به این‌که در اثر کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر، بین زیست‌تودهٔ ریشه و اندام هوایی نخود، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، این نتیجه منطقی به‌نظر می‌رسد.

نتایج آزمایش نشان داد که تعداد گره تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن ریشهٔ نخود نیز تحت‌تأثیر کاربرد علف‌کش‌ها قرار گرفت. بر اساس نتایج، کاربرد هر سه علف‌کش پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر باعث کاهش معنی‌دار ($p<0.01$) تعداد گره در ریشهٔ نخود شدند. دو علف‌کش بنتازون و ایمازتاپیر بدون اختلاف معنی‌داری با هم، بیشترین تأثیر را بر تعداد گره در ریشهٔ نخود داشتند، به‌طوری‌که منجر به کاهش بیش از ۹۰درصد در تعداد گره شدند. با توجه به این‌که علف‌کش پیریدات نسبت به شاهد، اختلاف معنی‌داری را از این نظر نشان داد، لیکن در بین علف‌کش های مورداستفاده، کمترین تأثیر را بر صفت مذکور داشت (جدول ۵).

جدول ۵- اثر کاربرد علف‌کش‌های پیریدات، بنتازون و ایمازتاپیر بر صفات اندازه‌گیری شده در گیاه نخود

Table 5. Effect of herbicides application (Pyridate, Bentazon and Imazethapyr) on chickpea measured parameters

Herbicide علف‌کش	parameters صفات						
	NDW(mg) وزن خشک گره	Nno تعداد گره	R/Sh ساقه/ریشه	زیست‌تودهٔ اندام‌های هوایی ShDW (g)	زیست‌تودهٔ اندام‌های زیرزمینی RDW (g)	درصد بقاء %Su	درصد نیتروژن کل %N
شاهد Control	64.5 a	27.9 a	0.80 a	1.5 a	1.20 a	98 a	1.41 a
پیریدیت Pyridate	30.2 b	15.4 b	0.63 b	0.9 b	0.59 c	73 b	1.34 b
بنتازون Bentazon	1.6 c	1.8 c	0.43 b	0.4 c	0.24 d	28 c	0.93 d
ایمازتاپیر Imazethapyr	2.7 c	1.9 c	0.86 a	0.9 b	0.74 b	94 a	1.25 c

در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).

%Su: Plant survival; RDW: Root dry weight; ShDW: Shoot dry weight; R/Sh: Root/shoot ratio; Nno: Nodule number; NDW: Nodule Dry Weight; %N: Nitrogen fixation; Means by uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.01$).

وزن‌خشک گره نخود نیز با کاربرد علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر تحت‌تأثیر قرار گرفت. هر سه علف‌کش به‌کاررفته در این آزمایش، باعث کاهش معنی‌داری ($p<0.01$) در این صفت شدند. بر اساس نتایج آزمایش، علف‌کش‌های بنتازون و ایمازتاپیر بدون اختلاف معنی‌داری، بیشترین تأثیر را در وزن‌خشک گره داشتند، به‌طوری‌که کاربرد آنها به‌ترتیب باعث کاهش۹۷درصد و ۹۵درصدی این صفت شدند، درحالی‌که علف‌کش پیریدیت کاهش ۵۳درصدی این صفت را موجب شد (جدول ۵). در این ارتباط، اثر بازدارندهٔ تعدادی از علف‌کش‌ها بر باکتری‌های گره، گزارش شده است (Singh & Wright, 2002; Hernandez *et al*., 1999). در مطالعه‌ای بر روی نخودفرنگی، مشاهده شد که کاربرد علف‌کش پیش‌رویشی لینوران به مقدار ۰/۷۵گرم در هکتار و متابنزتیازورون به مقدار ۱/۳گرم در هکتار منجر به کاهش معنی‌داری در تعداد و وزن گره‌های نخود شد (Parsa & Bagheri, 2008). اعتقاد بر این است که برخی آفت‌کش‌ها به‌طور طبیعی می‌توانند همانند مواد بیوشیمیایی رفتار کرده و در روابط سیگنالی بین مواد بیوشیمیایی و ریزوبیوم‌ها اختلال ایجاد کنند (Fox *et al*., 2004).

درصد نیتروژن تثبیت‌شده در گیاه با کاربرد سه علف‌کش پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) کاهش یافت، به‌طوری‌که علف‌کش‌های مذکور، به‌ترتیب باعث کاهش تثبیت نیتروژن به مقدار۷درصد، ۴۸درصد و ۱۶درصد شدند (جدول ۵). بر اساس نتایج، علف‌کش بنتازون بیش از دو علف‌کش دیگر باعث کاهش نیتروژن تثبیت‌شده در نخود شد و علف‌کش پیریدات نسبت به دو علف‌کش دیگر، کمترین تأثیر را بر درصد تثبیت نیتروژن توسط گیاه داشت. علف‌کش‌های پیریدات و بنتازون، هر دو از بازدارندگان فتوسنتز و علف‌کش ایمازتاپیر، بازدارندهٔ سنتز اسیدهای آمینه می‌باشد، از این رو، به‌نظر می‌رسد علف‌کش‌هایی که در نموّ ریشه یا ساختن کلروفیل اثرگذارند، ممکن است همزیستی باکتری-گیاه را به‌شدت تحت‌تأثیر قرار دهند. در این ارتباط، گزارش شده است که علف‌کش‌ها بر گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در حبوبات، تأثیر منفی دارند و این اثر بسته به حساسیت گونهٔ گیاهی و علف‌کش به‌کاررفته، متفاوت است (Parsa & Bagheri, 2008). کاربرد علف‌کش‌ها موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کم‌شدن مواد فتوسنتزی برای گره‌ها شده و در نهایت می‌تواند نیتروژن کل تثبیت‌شده را کاهش دهد (Walley *et al*., 2006). همچنین بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند که علف‌کش‌ها، تثبیت نیتروژن را از طریق اثرات غیرمستقیم بر رشد گیاه و کاهش دسترسی گره‌های ریشه به مواد فتوسنتزی، به‌شدت تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (Sprout *et al*., 1992; Vidal *et al*., 1992; Abd- Allah *et al*., 2000).

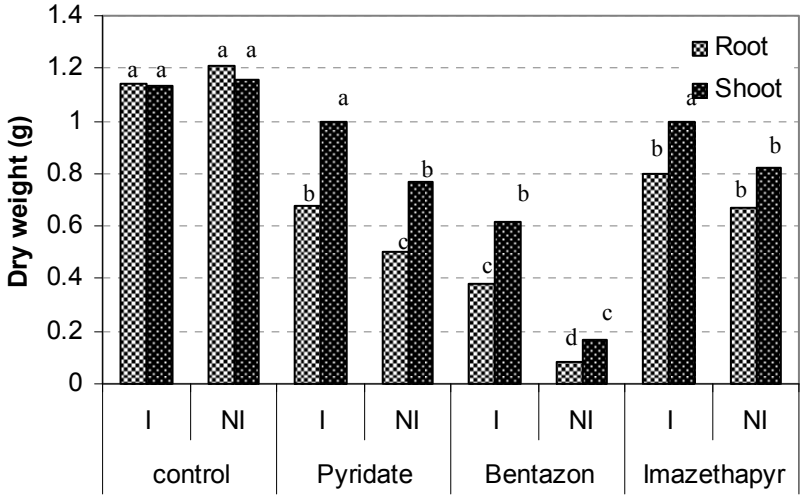
بر اساس نتایج (جدول ۱) اثر متقابل تیمار کاربرد علف‌کش و تلقیح بذور نخود با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، بر صفات زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی ($p<0.05$)، نسبت وزن‌خشک ریشه به اندام هوایی، تعداد و وزن‌خشک گره و درصد تثبیت نیتروژن ($p<0.01$) اختلاف معنی‌داری را نشان داد. همان‌طوری که قبلاً ذکر شد، زیست‌تودهٔ خشک ریشه در اثر کاربرد علف‌کش‌ها کاهش می‌یابد. اما در بررسی اثر متقابل کاربرد علف‌کش و تلقیح بذور بر این صفت، مشاهده شد که در علف‌کش‌های پیریدیت و بنتازون، زیست‌تودهٔ خشک ریشه در شرایطی که بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن تلقیح شده بودند به‌ترتیب ۲۶درصد و ۷۹درصد بیشتر از شرایطی بود که بذور با باکتری تلقیح نشده بودند. بر اساس نتایج، در تیمار شاهد (عدم کاربرد علف‌کش) و کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر، اختلاف بین تیمار بذور تلقیح‌شده و بذور تلقیح‌نشده در زیست‌تودهٔ خشک ریشه، معنی‌دار نبود (شکل ۲).

نتایج حاصل از مقایسه زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی، در شرایط کاربرد علف‌کش‌ها و تلقیح و عدم تلقیح بذور نشان داد که زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی در شرایط کاربرد علف‌کش‌ها در تیماری که بذور با باکتری تلقیح شده‌اند، به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) بیشتر از شرایط عدم تلقیح بذور بود، به‌طوری‌که زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی در علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر در شرایط بذور تلقیح‌شده با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، به‌ترتیب ۲۳درصد،۷۲درصد و ۱۸درصد بیشتر از شرایط عدم تلقیح بذور بود (شکل۲). بر اساس نتایج مذکور می‌توان گفت که با به‌کارگیری علف‌کش بنتازون که بیشترین اثرات منفی را بر صفات ذکر شده داشته است، تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن تا حدی باعث تعدیل اثر این علف‌کش شده است.

تعداد گره نیز در اثر کاربرد علف‌کش‌های بنتازون، ایمازتاپیر و پیریدیت در شرایط بذور تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۶)، اما اختلاف علف‌کش‌های مذکور در شرایط بذور تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده نسبت به شاهد، معنی‌دار ($p<0.01$) بود. در آزمایشات مشابه دیگری روی عدس، کاهش تعداد گره در حضور علف‌کش متریبیوزین با نسبت ۱کیلوگرم در هکتار گزارش شده است. همچنین Islam (1982) بیان کرده‌است که اثر علف‌کش بر گیاهان تلقیح‌شده، کمتر از گیاهان تلقیح‌نشده بوده‌است.

وزن‌خشک گره در اثر کاربرد علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر در شرایط بذور تلقیح‌شده نسبت به شاهد، به‌ترتیب ۳۹درصد، ۹۶درصد و ۹۳درصد کمتر بود، در حالی‌که در شرایط عدم تلقیح بذور، این اختلاف به‌ترتیب به ۶۷درصد، ۹۸درصد و ۹۸درصد رسید. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که تلقیح بذور در شرایط کاربرد علف‌کش پیریدیت می‌تواند اثرات منفی این علف‌کش را بر وزن‌خشک گره‌های ریشه کاهش دهد.

درصد نیتروژن تثبیت‌شده در تیمار شاهد و در شرایط تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار عدم تلقیح بذور بود، اما در شرایط کاربرد علف‌کش‌های بنتازون و ایمازتاپیر، تلقیح و عدم تلقیح بذور با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن، اختلاف معنی‌داری ($p<0.01$) را بر درصد تثبیت نیتروژن نشان نداد (جدول ۶). در این ارتباط Nesari *et al*. (2009) گزارش کردند که کاربرد کود بیولوژیک در مقادیر ۲۵ و ۵۰درصدی علف‌کش متریبیوزین باعث تعدیل اثرات مضر این علف‌کش بر نخود شد.



شکل ۲- اثر متقابل کاربرد علف‌کش و تلقیح بذور بر زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی نخود

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.05$).

Fig. 2. Interaction of herbicide application and inoculation on chickpea root and shoot dry weight

I: Inoculated seeds; NI: Non inoculated seeds; Means by the uncommon letters are significantly different ($p<0.05$).

جدول ۶- اثر متقابل کاربرد علف‌کش و تلقیح بذور بر تعداد و وزن‌خشک گره، درصد نیتروژن و نسبت ریشه به ساقه در نخود

Table 6. Inteaction of herbicide application and seed inoculation on nodule number, nodule dry weight, nitrogen content and root/shoot ratio in chickpea

Parameters صفات					
تعداد گره Nodule number	وزن خشک گره Nodule dry weight (mg)	درصد نیتروژن Nitrogen content (%)	نسبت ریشه به ساقه Root/Shoot ratio	تلقیح Inoculation	علف‌کش Herbicide
34.2 a	64 a	1.45 a	1.0 ab	تلقیح‌شده I	شاهد Control
21.6 b	65 a	1.38 b	1.1 a	تلقیح‌نشده NI	
14.9 c	39 b	1.28 c	0.67 d	تلقیح‌شده I	پیریدیت Pyridate
15.9 c	21 c	1.41 ab	0.58 d	تلقیح‌نشده NI	
2.5 d	2.2 d	0.92 d	0.70 cd	تلقیح‌شده I	بنتازون Bentazon
1.1 d	1.0 d	0.94 d	0.17 e	تلقیح‌نشده NI	
1.0 d	4.2 d	1.25 c	0.80 bcd	تلقیح‌شده I	ایمازتاپیر Imazethapyr
1.7 d	1.2 d	1.26 c	0.90 abc	تلقیح‌نشده NI	

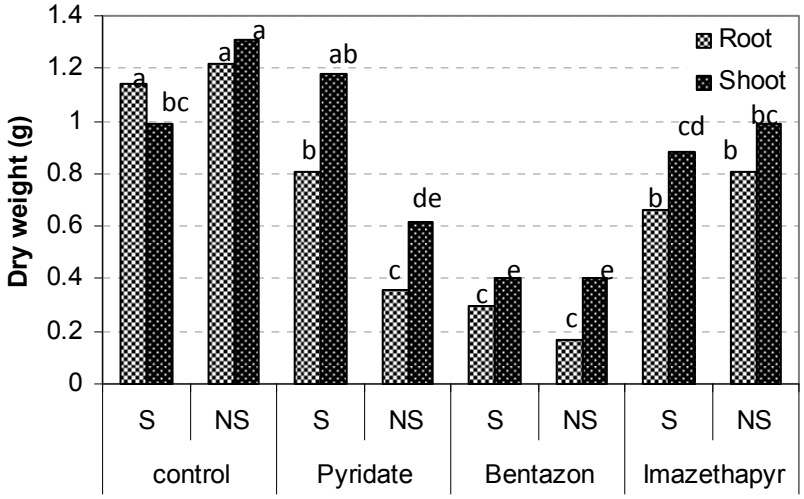
در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).

I: Inoculated seeds; NI: Non inoculated seeds; Means by uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.01$).

نسبت وزن‌خشک ریشه به وزن‌خشک اندام هوایی، در شرایط مختلف کاربرد علف‌کش و تلقیح بذور تحت تأثیر قرار گرفت، به‌طوری‌که بیشترین مقدار این نسبت مربوط به شاهد در هر دو حالت بذور تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده بود و کمترین مقدار این نسبت در شرایط عدم تلقیح بذور و کاربرد علف‌کش بنتازون مشاهده شد. به‌طورکلی تلقیح بذور همراه با کاربرد علف‌کش‌ها نسبت مذکور را افزایش داد (جدول ۶).

نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین اثرات متقابل تیمار علف‌کش و استریل خاک بر زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی، در شکل ۳ آورده شده است. در تیمار شاهد، زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی در خاک استریل‌نشده بیشتر از خاک

استریل‌شده بود. علف‌کش‌ها تأثیر متفاوتی بر این روند داشتند، به‌طوری‌که در اثر کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر، زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی در خاک استریل‌نشده بیشتر از خاک استریل بود، گرچه اختلاف بین تیمار استریل‌شده و استریل‌نشده در این علف‌کش، معنی‌دار نبود. زیست‌تودهٔ خشک اندام هوایی در تیمار علف‌کش پیریدیت و خاک استریل‌شده، به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) بیشتر از همین صفت در خاک استریل‌نشده بود. با به‌کارگیری این علف‌کش، زیست‌تودهٔ خشک ریشه نیز با روند بسیار مشابه با اندام هوایی تغییر کرد (شکل ۳).



شکل ۳- اثر متقابل کاربرد علف‌کش و استریل خاک بر زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی نخود

Fig. 3. Interaction of herbicides application and soil sterilization on chickpea root and shoot dry weight

S: خاک استریل‌شده؛ NS: خاک استریل‌نشده؛ میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).

S: Sterile soil; NS: Non sterile soil; Means by the uncommon letters are significantly different ($p<0.01$).

اثر متقابل تیمار علف‌کش و استریل خاک، بر تعداد گره تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن نیز معنی‌دار ($p<0.01$) بود. اختلاف تعداد گره در تیمار شاهد و خاک استریل‌نشده نسبت به تیمار شاهد و خاک استریل‌شده، معنی‌دار بود. همچنین با به‌کارگیری علف‌کش‌های پیریدیت، بنتازون و ایمازتاپیر مشاهده شد که در تیمار عدم استریل خاک تعداد گره بیشتری وجود داشت (جدول۷). در کاربرد دو علف‌کش بنتازون و ایمازتاپیر، در شرایط خاک استریل‌شده، هیچ گرهی در ریشه تشکیل نشد. اثر متقابل علف‌کش و استریل خاک بر وزن‌خشک گره نیز معنی‌دار ($p<0.01$) بود. بر اساس نتایج آزمایش، به‌جز در علف‌کش پیریدات که در خاک استریل‌شده، میانگین وزن خشک گره بیشتری داشت، در تیمار شاهد و دو علف‌کش دیگر در خاک استریل‌نشده، میانگین وزن‌خشک گره بیشتری مشاهده شد. البته برخی از اختلاف‌ها معنی‌دار نبودند. علف‌کش پیریدیت در خاک استریل‌شده، اختلاف معنی‌داری را بر وزن‌خشک گره نسبت به تیمار شاهد نداشت، ولی در خاک استریل‌نشده باعث کاهش حدود ۷۸درصدی در وزن‌خشک گره شد (جدول ۷).

نیتروژن تثبیت‌شده در نخود نیز تحت تأثیر اثر متقابل کاربرد علف‌کش‌ها و استریل خاک قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل، علف‌کش پیریدیت و بنتازون، به‌ترتیب کمترین و بیشترین تأثیر منفی را بر این صفت داشتند (جدول ۷).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، در بین سه علف‌کش مورد بررسی، بنتازون بیشترین تأثیر منفی را بر نخود داشت، به‌طوری‌که باعث کاهش معنی‌داری در بقاء، رشد، گرده‌زایی و تثبیت نیتروژن در نخود نسبت به سایر علف‌کش‌ها شد. از آنجایی که این علف‌کش، بیشتر در سایر حبوبات از جمله لوبیا استفاده می‌شود و برای نخود به‌طور اختصاصی ثبت نشده است، این نتیجه، مورد انتظار بود. دو علف‌کش پیریدیت و ایمازتاپیر اثرات متفاوتی بر نخود داشتند. بر اساس نتایج حاصل، علف‌کش پیریدیت باعث کاهش معنی‌داری در زیست‌تودهٔ

خشک ساقه و ریشهٔ نخود شد ولی تأثیر کمتری بر گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در نخود نسبت به ایمازتاپیر داشت. با این که علف‌کش ایمازتاپیر اثر منفی کمتری بر خصوصیات رشدی نخود از جمله زیست‌تودهٔ خشک ریشه و اندام هوایی داشت، اثر مخرب کاربرد این علف‌کش در صفاتی مانند تعداد و وزن‌خشک گره، مشابه با علف‌کش بنتازون بود. از سوی دیگر، تلقیح بذور نخود با باکتری تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن باعث تعدیل اثرات مضرّ کاربرد علف‌کش‌ها بر رشد، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن نخود شد، به‌طوری‌که در تیمارهایی که بذور آنها با باکتری تلقیح شده بودند، در صفات مختلف اندازه‌گیری‌شده، مقادیر بالاتری را نشان دادند. بر اساس نتایج، استریل‌کردن خاک، بیشترین تأثیر را بر همزیستی نخود-باکتری داشت. با توجه به این‌که استریل خاک، کلیهٔ ریزموجودات مفید موجود در خاک را از بین می‌برد، شانس برقراری ارتباط همزیستی نیز کاهش می‌یابد. لذا کاهش رشد، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در خاک استریل‌شده می‌تواند ناشی از این امر باشد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، استفاده از علف‌کش بنتازون در نخود توصیه نمی‌شود.

جدول ۷- اثر متقابل کاربرد علف‌کش و استریل خاک بر تعداد و وزن خشک گره و تثبیت نیتروژن در نخود

Table 7. Interaction of herbicide application and soil sterilization on chickpea nodule number, nodule dry weight and nitrogen content

علف‌کش Herbicide	استریل خاک Soil sterile	صفات Parameters		
		تعداد گره Nodule number	وزن‌خشک گره Nodule dry weight (mg)	درصد نیتروژن Nitrogen content (%)
شاهد Control	استریل‌شده S	7.37 d	33.75 b	1.42 a
	استریل‌نشده NS	48.50 a	95.38 a	1.40 a
پیریدیت Pyridate	استریل‌شده S	12.63 c	39.25 b	1.41 a
	استریل‌نشده NS	18.13 b	21.13 c	1.28 b
بنتازون Bentazon	استریل‌شده S	0.00 e	0.00 d	0.88 e
	استریل‌نشده NS	3.62 de	3.25 d	0.98 d
ایمازتاپیر Imazethapyr	استریل‌شده S	0.00 e	0.00 d	1.10 c
	استریل‌نشده NS	3.78 de	5.37 d	1.40 a

در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری ندارند ($p<0.01$).

S: sterile soil; NS: Non sterile soil; Means by uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.01$).

همچنین دو علف‌کش پیریدیت و ایمازتاپیر، تأثیر سوئی بر بقای نخود نداشتند. بنابراین با توجه به اهمیت تثبیت‌زیستی نیتروژن در کاهش نیاز به مصرف کودهای نیتروژنه و این‌که علف‌کش پیریدیت تأثیر سوء کمتری بر ویژگی‌های زیستی نخود از جمله تثبیت نیتروژن داشته است، نسبت به سایر علف‌کش‌های به‌کاررفته در این آزمایش، علف‌کش ایمن‌تری محسوب می‌شود. از این رو با توجه به محدودبودن طیف علف‌کش‌های قابل‌استفاده برای کشت نخود، می‌توان کاربرد پیش‌رویشی این علف‌کش‌ها را درنظر داشت.

منابع

1. Aamil, M. 2002. Effect of agrochemicals on soil microflora and some important cereal and legume crops. Ph.D. Thesis, Fac. Agric. Aligrah Muslim Univ: Aligrah., India. 2.
2. Abd-Alla, M.H., Omar, S.A., and Karanzha, S. 2000. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. Applied Soil Ecology 14: 191-200.
3. Anderson, A., Baldock, J.A., Rogers, S.L., Bellotti, W., and Gill, G. 2004. Influence of Chlorsulfuron on rhizobial growth, nodule formation and nitrogen fixation with chickpea. Australian Journal of Agricultural Research 55: 1059-1070.

4. Datta, A., Sindel, B.M., Kristiansen, P., Jessop, R.S., and Felton, W.L. 2009. Effect of Isoxaflutole on the growth, nodulation and nitrogen fixation of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Crop Protection 28: 923-927.
5. Doughton J.A., Vallis, I., and Saffigna, P.G. 1993. Nitrogen fixation in chickpea. I. influence of prior cropping or fallow, nitrogen fertilizer and tillage. Australian Journal of Agricultural Research 44: 1403-1413.
6. Eberbach, P. 1993. The effect of herbicides and fungicides on legume-Rhizobium symbiosis. In: J. Altman, (Ed.). Pesticide Interactions in Crop Production: Beneficial and Deleterious Effects. CRC Press, London.
7. Eberbach, P.L., and Douglas, L.A. 1991. Effect of herbicide residues in a sandy loam on the growth, nodulation and Nitrogenase activity (C_2H_2/C_2H_4) of *Trifolium subeterraneoum*. Plant and Soil 131: 67-76.
8. Fox, J.E., Starcevic, M., Jones, P.E., Burow, M.E., and McLachlan, J.A. 2004. Pyhotestrogen signaling and symbiotic gene activation are disrupted by endocrine-disrupting chemicals. Environ Health Perspec 112: 672-677.
9. Gonzalez, A., Gonzalez-Murua, C., and Royuela, M. 1996. Influence of Imazethapyr on *Rhizobium* growth and its symbiosis with pea (*Pisum sativum*). Weed Science 44: 31-37.
10. Hernandez, A., Gracia Plazaola, J.I., and Becerril, J.M. 1999. Glyphosate effects on Phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merr.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 2920-2925.
11. Islam, R. 1982. Lentil Experimental News Service, Canada. 9: 23-24.
12. Iswaran, V., and Marwah, T.S. 1980. A modified rapid Kjeldahl method for determination of total nitrogen in agricultural and biological materials. Geobios 7: 281-282.
13. Kafi, M., and Mahdavi damghani, A. 2002. Mechanism of tolerance to environmental stress in plant. Ferdowsi Univ. Mashhad., Iran. (In Persian with English summary).
14. Koutroubas, S.D., Parageorgiou, M., and Fotiadis, S. 2009. Growth and nitrogen dynamics of spring chickpea genotypes in a Mediterranean-type climate. Journal of Agricultural Science 147: 445-458.
15. Kumar, K., and Goh, K.M. 2000. Biological nitrogen fixation, accumulation of soil nitrogen and nitrogen balance for white clover (*Trifolium repens* L.) and field pea (*Pisum sativum* L.) grown for seed. Field Crops Research 68: 49-59.
16. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. San Diego, CA. USA.
17. Mårtensson, A.M. 1992. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing *rhizobia* and their symbiosis with small-seeded legumes. Soil Biology and Biochemistry 24: 435-445.
18. Mårtensson, A.M., and Nilsson, A.K. 1989. Effects of Chlorsulfuron on *Rhizobium* grown in pure culture and in symbiosis with alfalfa (*Medicago sativa*) and red clover (*Trifolium prtense*). Weed Science 37: 445-450.
19. Matthews, G.A. 2008. Pesticides, health, safety and the environment. Black Well Publishing Ltd.
20. Mousavi, S.K. 2010. Chemical weed control in autumn sowing of chickpea (*Cicer arietinum* L.) at Lorestan province. Iranian Journal of Pulses Research 1: 131-142.
21. Mousavi, S.K., Sabeti, P., Jafarzadeh, N., and Bazzazi, D. 2010. Evaluation of some herbicides efficacy for weed control in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Iranian Journal of Pulses Research 1: 19-31.
22. Nesari, N., Ghorbani, R., and Lashkari, A. 2009. Nodulation, nitrogen fixation and growth characteristics of chickpea under Metribuzin herbicide application. Agroecology 1: 37-45.
23. Parsa, M., and Bagheri, A. 2009. Pulses. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad. (In Persian with English summary).
24. Peoples, M.B., and Craswell, E.T. 1992. Biological nitrogen-fixation investments, expectations and actual contributions to agriculture. Plant and Soil 141: 13-39.
25. Sandhu, P.S., Dhingra, K.K., Bhandari, S.C., and Gupta, R.P. 1991. Effect of hand-hoeing and application of herbicides on nodulation, nodule activity and grain yield of *Lens culinaris*. Plant and Soil 135: 293-296.
26. Singh, G., and Wright, D. 1999. Effects of herbicides on nodulation, symbiotic nitrogen fixation, growth and yield of pea (*Pisum sativum*). Journal of Agricultural Science 133: 21-30.
27. Singh, G., and Wright, D. 2002. *In vitro* studies on the effects of herbicides on the growth of rhizobia. Letters in Applied Microbiology 35: 12-16.

28. Soleimani, R., and Asgharzadeh, A. 2010. Effect of *Mesorhizobium* inoculation and fertilizer application on yield and yield components of rainfed chickpea. Iranian Journal of Pulses Research 1: 1-8.
29. Sprout, S.L., Nelson, L.M., and Germida, J.J. 1992. Influence of Metribuzin on the *Rhizobium leguminosarum*- lentil (*Lens culinaris*) symbiosis. Canadian Journal of Microbiology 38: 343-349.
30. Vidal, D., Martinez, Bergareche, J.C., Miranda, A.M., and Simon, E. 1992. Effect of Methabenzthiazuron on growth and Nitrogenase activity in *Vicia faba*. Plant and Soil 144: 235-245.
31. Wally, F., Taylor, A., and Lupwayi, N. 2006. Herbicide residues & effects on nitrogen fixation in pulse crops. Presented at Farm Tech. 2006. Herbicide Effects on Pulse Crop Nodulation and Nitrogen Fixation P: 52-55.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 3, No. 1, 2012, p. 105-118

Investigate the effect of Pyridate, Bentazon and Imazethapyr herbicides on growth, nodulation and biological nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.)

Izadi Darbandi[1], E. & Akram[2*], L.

1- Contribution from Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2- MSc. student of Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

Received**:** 17 March 2011
Accepted**:** 31 October 2011

Abstract

In order to study the effect of Pyridate, Bentazon and Imazethapyr herbicides on chickpea growth, nodulation and biological nitrogen fixation, a greenhouse experiment was conducted at Ferdowsi University of Mashhad in 2010. Experimental type was completely randomized design with four replications. Treatments included Pyridate, Bentazon and Imazethapyr herbicides application in 1200, 720 and 75 ga.i./ha^{-1}, respectively. Chickpea seed inoculation with *Mesorhizobium ciceri* bacteria in two levels (inoculated and non-inoculated) and two levels of soil sterile and non-sterile. Seeds planted in pots with 10 cm diameter. Pyridate was applied as preplant and soil in corporation, but Bentazon and Imazethapyr were applied at third pinnately leaf. At 40 days after herbicides application (flowering stages), plant survival, root and shoot biomass, root/shoot ratio, nodule number, nodule dry weight and chickpea nitrogen fixing parameters were determined. Results showed that seed inoculation with *Mesorhizobium* increased nodule number and its dry weight, 20 and 25 percent, respectively. Soil sterilization decreased nodule number, nodule dry weight, nitrogen fixing and root/shoot ratio, significantly ($P< 0.01$). Based on experimental results of all herbicides, application decreased significantly ($P< 0.01$) in above mentioned parameters. Among herbicides, Bentazon imposed the most negative effect on chickpea parameters, and decreased root and shoot biomass and nodule number and weight as 80%, 73%, 93% and 97%, respectively. However, Pyridate herbicide had the lowest effect on nodule number, nodule dry weight and nitrogen fixation, but it decreased chickpea root and shoot biomass, significantly. Imazethapyr had lower effect on chickpea root and shoot biomass, but it imposed the most negative effect on nodule number and nodule weight.

Key words: Bacteria, Biomass, Nodule dry weight, Nodule number, Pulses

[*] **Corresponding author:** le_akram@yahoo.com; Mobile: 0914309893