پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۸ شمارهٔ۱، نیمهٔ اول ۱۳۹۶، صفحهٔ ۱۱۲-۹۷

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 8, No. 1, 2017, p. 97-112
DOI: 10.22067/ijpr.v8i1.50327

تأثیر قارچ مایکوریز، باکتری سودوموناس و اسیدهیومیک بر شاخص‌های رشدی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

شاهین شاهسونی[1*]، شاهرخ قرنجیک[2] و ندا جدیدالأسلام[3]

۱- استادیار گروه علوم خاک (حاصلخیزی و تغذیه گیاه)، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود
۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات (بیوتکنولوژی)، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود
۳- کارشناس‌ارشد رشتهٔ علوم خاک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۱۶

چکیده

لوبیا یکی از حبوبات مهم است که به‌صورت مستقیم مورد استفاده انسان قرار گرفته و این محصول با داشتن حدود ۲۲ درصد پروتئین و ۵۰ تا ۶۰درصد کربوهیدرات، ارزش غذایی بالایی دارد. کودهای بیولوژیک (مایع، جامد یا نیمه‌جامد) حاوی یک یا چندگونه میکروارگانیسم خاص بوده و باعث گسترش بیشتر و بهتر سیستم ریشه‌ای و جذب بهتر عناصر و در نتیجه رشد بیشتر گیاه شده و با بالابردن کمی و کیفی اجزای عملکرد گیاهان، موجب افزایش عملکرد می‌شوند. به‌منظور بررسی اثر قارچ میکوریز و باکتری سودوموناس به‌عنوان کودهای زیستی و اسیدهیومیک بر عملکرد گیاه لوبیا آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با دو سطح قارچ (M_0: عدم مایه‌زنی با قارچ، M_1: مایه‌زنی با قارچ *Glomusetunicatum*)، دو سطح باکتری (S_0: عدم مایه‌زنی با باکتری و S1: مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas putida*) و سه سطح اسیدهیومیک (H_0: عدم مصرف اسیدهیومیک، H_1: مصرف ۲۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم، H_2: مصرف ۴۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم) در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ترکیب دو کود زیستی باکتری و قارچ میکوریز باعث افزایش معنی‌دار در وزن دانه و تعداد دانه در غلاف شد. کاربرد مایه‌زنی گیاه لوبیا با قارچ *Glomus etunicatum* میزان عملکرد دانه را به‌طور متوسط ۲/۸۲درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. نتایج آزمایش به‌طورکلی نشان داد که تیمارهای اعمال‌شده بر اکثر خصوصیات صفات زراعی لوبیا تأثیر مثبت داشتند و اسیدهیومیک توانست به‌طور مستقیم اثرات مثبتی بر رشد گیاه بگذارد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهیومیک، قارچ میکوریز، لوبیا، *Pseudomonas putida*

مقدمه

حبوبات به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین بعد از غلات، دومین منبع مهم غذایی انسان هستند و جزء اصلی رژیم غذایی بسیاری از مردم فقیر جهان را تشکیل می‌دهند؛ چراکه مقادیر قابل‌توجهی پروتئین مرغوب موجود در دانه این محصولات در ترکیب با غلات می‌تواند یک ترکیب ارزشمند غذایی فراهم نماید. این گیاهان با تثبیت زیستی نیتروژن ضمن بهبود حاصلخیزی خاک به‌صورت گیاهان پوششی و یا در تناوب با بسیاری از گیاهان زراعی در جلوگیری از فرسایش خاک مؤثر بوده و نقش مهمی در پایداری نظام‌های کشاورزی ایفا می‌نمایند و برای تنوع‌بخشی به نظام‌های کشت مبتنی بر غلات به‌عنوان محصولات ممتاز درنظرگرفته می‌شوند (Parsa & Bagheri, 2008).

به‌طور کلی افزایش محصول در گرو به‌کارگیری بهینه نهاده‌های کشاورزی از جمله کود می‌باشد. کودهای شیمیایی در ایران نیز از مهم‌ترین نهاده‌های کشاورزی به‌حساب می‌آیند. کودهای شیمیایی یکی از عوامل اصلی افزایش حاصلخیزی خاک می‌باشند، ولی استفاده بیش از اندازه از آن‌ها به‌ویژه هنگامی‌که با عملیات مدیریتی نامناسب مثل سوزاندن بقایای گیاهی همراه شود، میزان ماده آلی خاک را به‌شدت کاهش می‌دهد. این موضوع بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک تأثیرگذاشته و امکان فرسایش را در این خاک‌ها افزایش می‌دهد. استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی با تأثیر سوء روی ساختمان خاک، به عدم تعادل در خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و در نتیجه کاهش جذب عناصر غذایی منجر می‌گردد (Adeleye *et al*., 2010; Seran *et al*., 2010). امروزه به‌دلیل افزایش اهمیت مسائل زیست‌محیطی توجه بیشتری به کودهای زیستی (بیولوژیک) برای جایگزینی با کودهای

* **نویسنده مسئول:** تلفن همراه: ۰۹۱۲۳۷۳۱۶۶، shahsavani2001@yahoo.com

شیمیایی شده است. از آنجاکه مدیریت کود از عوامل اصلی در نیل به کشاورزی پایدار محسوب می‌گردد، لذا جایگزینی تدریجی کودهای زیستی به‌دلیل مزایای نسبی این کودها و به‌علاوه ارزانی آن‌ها نسبت به کودهای شیمیایی خصوصاً کودهای نیتروژنی و فسفاتی می‌تواند بار سنگین یارانه را از دوش دولت برداشته و گامی دیگر در جهت شکوفایی اقتصاد کشور به‌حساب آید. از طرف دیگر مصرف کودهای زیستی بدون نگرانی از اثرات سوء زیست‌محیطی غالباً موجب بهبود شرایط فیزیکی-شیمیایی و زیستی خاک‌ها شده، افزایش حاصلخیزی و باروری اراضی را به‌دنبال دارد (Peiranosheh *et al*., 2010). چرخهٔ بقایای آلی دارای یک ارزش جهانی برای کشاورزی پایدار و همچنین کاهش آلاینده‌ها در محیط زیست می‌باشد. امروزه به‌کارگیری روش‌های زیستی به‌عنوان طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه حل برای زنده و فعال نگه‌داشتن سیستم حیاتی خاک در اراضی کشاورزی مطرح می‌باشد (Darzei *et al*., 2008). کودهای زیستی در برخی موارد به‌عنوان جایگزین و در بیشتر موارد به‌عنوان مکمل کودهای شیمیایی پایداری تولید را در سیستم‌های کشاورزی تضمین می‌کنند (Saleh Rastein, 2001).

استفاده از کودهای زیستی نظیر قارچ‌های میکوریزی وزیکولار آربوسکولار و میکروارگانسیم‌های محرک رشد در کشاورزی، علاوه‌بر افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانسیم‌های مفید خاک در جهت فراهم‌کردن عناصر غذایی موردنیاز گیاه مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم عمل نموده و سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌گردند (Arancon *et al*., 2004).

باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه بخش کوچکی (دو تا پنج درصد) از باکتری‌های محیط ریشه هستند که رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Antouan & Klopper, 2001). این باکتری‌ها علاوه برکمک به جذب عنصری خاص باعث جذب سایر عناصر و کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک و تحریک رشد گیاه و افزایش کمی وکیفی محصول می‌گردند. بدین‌لحاظ از نظر علمی این باکتری‌ها تحت نام کلی محرک رشد گیاهی (PGPR)[1] نامیده می‌شوند. از آنجاکه این باکتری‌ها از خاک گرفته می‌شوند، مزایای فراوانی دارند. این‌گونه کودها منشاء طبیعی داشته بنابراین استفاده از آن‌ها رجوع به طبیعت و بهره‌برداری از اجزای طبیعت برای بهترساختن آن محسوب می‌شود. این کودها زیان‌های زیست‌محیطی کودهای شیمیایی را کاهش داده و خود موجب احیاء و حفظ محیط زیست می‌شوند. بررسی منابع نشان داده که باکتری‌ها اثر سودمندی بر رشد گیاه به‌وسیله تأمین مواد غذایی موردنیاز گیاه، تولید آنتی بیوتیک، افزایش تولید عوامل رشدی گیاه و جلوگیری از بیماری‌های ریشه دارند (Davison, 1998).

مواد هیومیک بخش اصلی و مهم تشکیل‌دهنده مواد آلی طبیعی در خاک است. اعتقاد بر این است که غلظت اسیدهیومیک در یک گرم خاک در حالت طبیعی کمتر از $10 mg\ L^{-1}$ است، اما همین مقدار نقش ویژه‌ای بر عناصر فلزی و انتقال، جذب و دفع آن‌ها دارد که از نظر زیست‌محیطی حائزاهمیت فراوان است و با حضور آن‌ها در محیط خاک به‌عنوان ماکرو مولکول در فاز کلوئیدی وضعیت فلزات پیچیده‌تر می‌شود (Widada *et al*., 2007; Zahir *et al*., 2004). اسیدهیومیک بخش خاص و با ثباتی از مواد هوموسی است که دارای تعامل با طیف گسترده‌ای از مواد از جمله فلزات و آلاینده‌های آلی موجود در آب و خاک می‌باشد (Wahyudi *et al*., 2011). اسیدهیومیک می‌تواند رفتاری شبیه مواد محرک رشد، خصوصاً هورمون‌های اکسینی، از خود بروز دهد و از این طریق موجب بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاهان گردد. اراضی خشک و نیمه‌خشک نوعاً با شرایط قلیایی مواجه هستند و اسیدهیومیک به‌دلیل حلالیت بیشتر می‌تواند اثرات مثبتی بر رشد گیاهان داشته باشد. منتهی کمبود مواد آلی در این اراضی مشکل اصلی به‌حساب می‌آید (Arancon *et al*., 2006). ورمی‌کمپوست منبع غنی از مواد هیومیک بوده و دارای ۳۶-۱۷درصد اسیدهیومیک و ۳۰-۱۳درصد اسید فولویک است (Orlov & Biryukova, 1996).با توجه به مطالب مذکور، هدف از انجام این مطالعه بررسی و مقایسه تأثیر متقابل قارچ میکوریز، باکتری سودوموناس و اسیدهیومیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه لوبیا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی زادمایه قارچی: زادمایه قارچی قارچ میکوریز آربوسکولار گونه *Glomus etunicatum* (تهیه‌شده از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز) در بستر خاک لوم شنی استریل با میزبان گیاهی سورگوم، به‌مدت سه-چهار ماه تکثیر شد. در این مدت از ۱۶ساعت روشنایی (با نور تکمیلی فلورسنت) و هشت ساعت تاریکی استفاده شد. آبیاری گیاهان با آب‌مقطر و در فواصل منظم از محلول غذایی راریسون با نصف غلظت فسفر استفاده شد. در فواصل ۴۵روز و ۳ماه پس از کشت گلدانی، نمونه‌برداری و رنگ‌آمیزی ریشه به‌منظور ارزیابی میزان تکثیر قارچ در گلدان‌ها انجام شد. پس از اطمینان از

[1] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

تکثیر قارچ‌ها و کلنیزاسیون ریشه‌ها بخش هوایی گیاهان را قطع کرده و با قیچی استریل، ریشه‌های داخل خاک را خرد کرده و مخلوط داخل گلدان که حاوی هیف، اسپور و ریشه‌های میکوریزی بود به‌عنوان زادمایه استفاده شد (Aliasgharzad, 2000).

آماده‌سازی زادمایه باکتری: گونه باکتری *Pseudomonas putida* از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت و مراحل زیر انجام گردید.

تهیه زادمایه: ابتدا درون ارلن‌های شیشه‌ای ۱۰۰میلی‌لیتری مقدار ml ۱۵ محیط کشت NB ریخته شد و ارلن‌ها در دمای ^{0}C ۱۲۱ و فشار۱/۲بار‌درون اتوکلاو به‌مدت ۱۵دقیقه استریل شدند. پس از سرد شدن ارلن‌ها، محیط کشت درون هر ظرف توسط یک لوپ از نمونه باکتری تلقیح شدند و کشت‌ها به‌مدت ۴۸ تا ۷۲ساعت (بسته به سرعت رشد باکتری) در دمای حدود ^{0}C۲۸ بر روی هم‌زن دورانی با سرعت چرخش ۱۲۰دور در دقیقه هوادهی و خوابانده شد. پس از رشد کافی باکتری درون محیط کشت، ابتدا دانسیته نوری (OD) سوسپانسیون‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۰نانومتر قرائت و آن‌گاه با استفاده از منحنی رشد (OD-CFU) و بر اساس فاکتور رقّت و از طریق افزودن مقادیر لازم آب‌مقطر استریل جمعیت باکتری در تمامی سوسپانسیون‌ها در حد ۴×۱۰^{۹} cfu.ml^{-1} تنظیم شد. به‌این ترتیب امکان برداشت و کاربرد تعداد یکسان سلول باکتری زنده برای آزمون‌های مورد نظر فراهم شد (Busato *et al*., 2002).

استخراج اسیدهیومیک: اسیدهیومیک (HA) در تیمارهای آزمایشی با روش (Kay *et al*., 2004) استخراج شد. برای این منظور نمونه‌های ورمی‌کمپوست با نسبت ۱:۱۰ (مایع:جامد) با سود نیم‌مولار مخلوط و به‌مدت ۲۴ساعت (زمان استخراج) در اتاق تاریک با شدت ۱۶۰دور در دقیقه تکان داده شدند. فاز محلول از فاز رسوب با سانتریفیوژ (۶۰۰۰ rpm) جداسازی و با HCl شش مولار به pH<2 رسانده شد تا اسیدهیومیک رسوب کرده و از اسید فولویک جداسازی شود. اسیدهیومیک جداسازی شده با HCl:HF (۰/۳ : ۰/۱مولار) خالص‌سازی و با آب‌مقطر تا زمانی که pH به حدود چهار-پنج برسد، شسته شد و در نهایت در دمای زیر ۵۰درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

انتخاب رقم و آماده‌سازی بذر لوبیا: بذر گیاه لوبیا *Phaseolus vulgaris* L. لاین Cos-16 از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز تهیه شد. این رقم مقاوم به خشکی می‌باشد (Bayat *et al*., 2010).

آماده‌سازی خاک برای کشت گلدانی: خاک موردنظر برای این آزمایش یک خاک با بافت متوسط بوده و ازایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان از عمق صفر-۲۵سانتی‌متر برداشت شده و پس از عبور از الک چهار میلی‌متر باروش آفتاب‌دهی استریل شد.

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای در جدول۱ ارائه شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود خاک غیرشور، با ماده آلی کم و دارای بافت سبک می‌باشد.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1. Physico-chemical properties of used soil

بافت Texture	درصد رطوبت وزنی Moisture (%)	pH	کربن آلی OC%	شوری EC_e(dS m^{-1})	پتاسیم K(mg kg^{-1})	فسفر P(mg kg^{-1})
شن لوم (Sandy Loam)	12	7.81	0.0128	1.1	182.6	4.4

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به شرح زیر اندازه‌گیری شدند: اندازه‌گیری pH خاک با روش عصاره گل اشباع با دستگاه pHمتر، رطوبت ظرفیت مزرعه با روش وزنی، EC با روش عصاره گل اشباع با دستگاه ECمتر، بافت خاک با روش هیدرومتر، فسفر قابل‌جذب با روش (Olsen, 1954)، پتاسیم قابل‌جذب (استات آمونیوم۷=pH)، درصد کربن آلی با روش(Walkley & Black, 1934) و نیتروژن کل خاک به روش کجلدال.

کشت گیاه و اعمال تیمارها: به هر گلدان به اندازه سه کیلوگرم خاک استریل اضافه شد. به‌منظور اعمال تیمارهای قارچی،۷۰گرم زادمایه به‌صورت یک لایه نازک در عمق پنج سانتی‌متری از سطح خاک قرار داده شد و در تیمارهای بدون قارچ، به‌همان مقدار زادمایه قارچی ابتدا اتوکلاو و سپس به خاک اضافه شد. برای انتقال باکتری به خاک گلدان، زادمایه جامد باکتری با حامل پرلیت استریل مخلوط گردیده و زادمایه به‌صورت لایه نازک در هر گلدان زیر بذر قرار گرفت و سپس

روی آن خاک اضافه شد و برای تیمارهای بدون باکتری به همان مقدار محیط کشت بدون باکتری به همراه حامل پرلیت به خاک اضافه شد. اسیدهیومیک مستخرج از ورمی‌کمپوست به‌صورت پودری مصرف شد و برای تیمارهای سطح ۲ به‌مقدار ۲۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم گلدان و به تیمارهای سطح ۳ به‌مقدار ۴۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم گلدان به آن‌ها اضافه و به‌خوبی با خاک مخلوط شد. شرایط رشد گیاه در گلخانه، درجه‌حرارت روز در حدود ۲۵درجه سانتی‌گراد توسط نور خورشید و در شب حدود ۲۰درجه سانتی‌گراد بود. پس از اعمال تیمارها بذور استریل شدهٔ لوبیا به تعداد پنج بذر در هر گلدان کشت شد. رطوبت تمامی گلدان‌ها در سطح ۰/۹FC تنظیم شد و جهت آبیاری، از آب‌مقطر با توزین گلدان‌ها در فواصل معیّن استفاده شد.

اندازه‌گیری برخی از صفات گیاه: پس از چهار ماه رشد رویشی و رسیدگی کامل بذرها، پارامترهای زیر در گیاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند:

اندازه‌گیری وزن تَر بخش هوایی و ریشه: هنگام برداشت، بخش هوایی، گیاه از سطح خاک قطع شد و وزن تَر به‌دست آمد. بعد از تعیین وزن تَر، بذرها از گیاه جدا شده و بعد از برداشت بخش هوایی، خاک گلدان‌ها را روی پلاستیکی خالی کرده و بعد از گذشت مدت‌زمانی که خاک نیمه‌مرطوب شد، از الک عبور داده و ریشه‌ها از خاک جدا گردید. سپس ریشه‌ها را با آب‌مقطر شست‌وشو داده، بعد از خشک‌کردن آب اضافی، وزن تَر آن به‌دست آمد.

اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه: برای تعیین وزن خشک، بخش هوایی و ریشه‌ها در پاکت‌های مجزا، در دمای ۵۰درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ساعت در آون قرار داده شد. بعد از تعیین وزن خشک، تمام نمونه‌های گیاهی جهت اندازه‌گیری غلظت عناصر با آسیاب برقی به‌صورت پودر همگن درآورده شد. برای اندازه‌گیری وزن تَر و خشک بخش هوایی و ریشه از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ ±گرم استفاده شد.

عملکرد دانه:

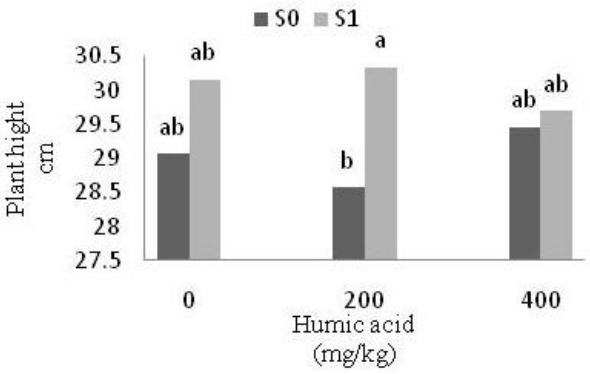
(تعداد بوته در گلدان) ۳/ (عملکرد ۳ بوته در گلدانx تعداد بوته در متر مربع) = عملگرد دانه

طرح آزمایش و تجزیه‌های آماری: آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا" تصادفی در گلخانهٔ دانشگاه تربیت‌معلم تبریز انجام شد. فاکتور اول و دوم در دو سطح، وجود و عدم وجود قارچ میکوریز (M_0 و M_1) و باکتری *P. putida* (S_0 و S_1) و فاکتور سوم مصرف اسیدهیومیک در سه سطح (H_0=۰ H_1= ۲۰۰ H_2=۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در سه تکرار انجام شد. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهایMSTAT-C و SPSS صورت گرفت. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال مربوطه استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده گردید.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارتفاع بوته (جدول۲) نشان داد که اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری در سطح احتمال یک درصد و قارچ میکوریز در سطح احتمال پنج درصد بر ارتفاع گیاه لوبیا معنی‌دار می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کمترین میانگین ارتفاع در اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری مربوط به تیمار S_0H_1 (۲۸/۵۸cm) و بیشترین ارتفاع (۳۰/۳۵cm) نیز مربوط به تیمارS_1H_1 می‌باشد (شکل ۱).



شکل۱- اثر متقابل باکتری و اسیدهیومیک بر ارتفاع گیاه

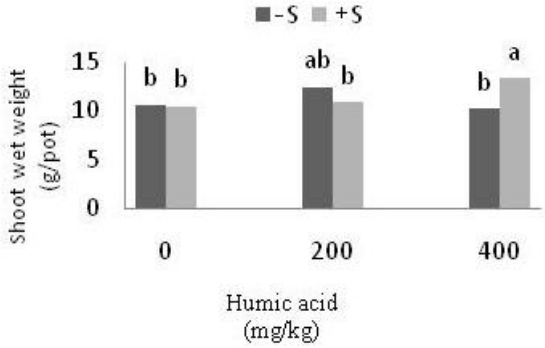
Fig. 1. Interaction effect of Humic acid and bacteria on plant hight

نتایج مطالعات (Safapour, 2010) نشان داده که اثر قارچ میکوریز بر ارتفاع گیاه لوبیا قرمز مؤثر بوده است. برخی محققان (Ghanavati Nadeian, 2012) نیز دریافتند اثر قارچ میکوریز *Glomus etunicatum* بر ارتفاع گیاه شبدر مؤثر بوده است. عمده‌ترین تأثیر قارچ‌های میکوریز آرباسکولار به افزایش گیاهان، کمک به جذب عناصر غذایی می‌باشد (Aliasgharzad, 1993). تحقیقات نشان داده است کاربرد باکتری‌های محرک رشد موجب تحریک رشد و افزایش ارتفاع از طریق مکانیسم‌های مختلفی چون تولید آنزیم ACCدآمیناز در گیاهان می‌شود. در آزمایشی (Zahir *et al*., 2004) گزارش شد که باکتری‌های محرک رشد با ترشح ترکیبات مختلفی مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، ریبوفلاوین‌ها و

ویتأمین‌ها با نفوذ در ریشه گیاهان غیرلگوم و لگوم از جمله سویا باعث افزایش رشد و طول سلول‌های اندام هوایی و در نتیجه موجب افزایش ساقه می‌گردند (Biswas *et al*., 2000). استفاده از اسیدهیومیک بنا به‌دلیل خاصیت شبه هورمونی جذب عناصر غذایی مخصوصاً نیتروژن را افزایش می‌دهد که موجب افزایش رشد گیاه می‌شود (Muscolo *et al*., 1996).

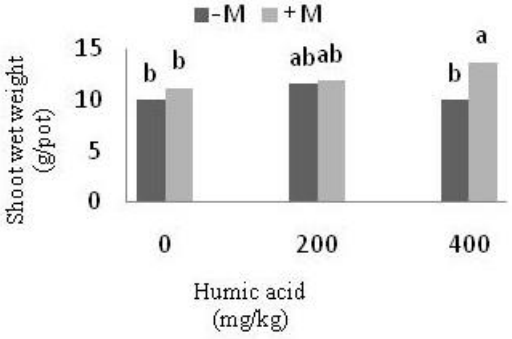
وزن تَر و خشک بخش هوایی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که فاکتور قارچ میکوریز در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل اسیدهیومیک و قارچ میکوریز و اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری بر صفت وزن تَر اندام هوایی گیاه لوبیا داشت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین برای اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری کمترین میزان وزن تَر گیاه لوبیا (۱۰/۱۹ g) را تیمار S_0H_2 و بیشترین میانگین وزن تَر (۱۳/۲۹ g) را تیمار S_1H_2 نشان داد (شکل ۲). مقایسه میانگین اثر توأم قارچ و اسیدهیومیک نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد. کمترین میانگین وزن تَر اندام هوایی (۹/۹۰g) در تیمار M_0H_0 و بیشترین میانگین وزن تَر اندام هوایی (۱۳/۵۸g) در تیمار M_1H_2 مشاهده شد (شکل ۳). استفاده از باکتری محرک رشد باعث افزایش حجم ریشه‌ها می‌شود و در نهایت جذب آب و مواد معدنی بیشتر می‌گردد که در نهایت سبب افزایش وزن تَر گیاه می‌شود (Banchio *et al*., 2008).



شکل۲- اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری بر وزن تَر اندام هوایی

Fig. 2. Interaction effect of Humic acid and bacteria on shoot wet weight



شکل۳- اثر متقابل اسیدهیومیک و قارچ میکوریز بروزن تَر اندام هوایی

Fig. 3. Interaction effect of Humic acid and Mycorrhiza on shoot wet weight

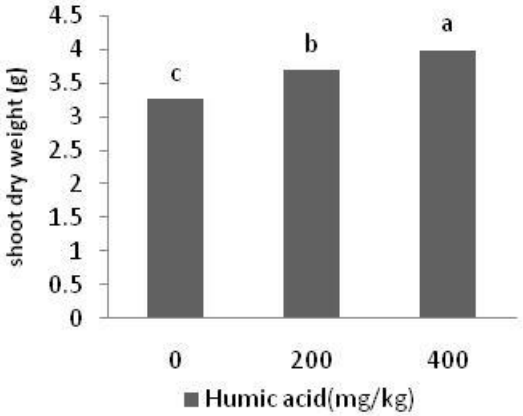
گیاه *Strophostyles helvala* تلقیح‌شده با *Glomus mosseae* به‌طور معنی‌داری وزن تَر اندام هوایی بیشتری نسبت به تیمارهای غیرمیکوریزی داشت (Tasang & Maum 1999). در بررسی‌های قبلی مشخص شد که میکوریز با فراهم‌کردن بیشتر میزان فسفر، منگنز و آهن در اندام هوایی گیاه آویشن موجب افزایش وزن تَر اندام هوایی این گیاه شد (Dolatabadi *et al*., 2011). Mirzakhani *et al*, (2009) افزایش وزن تَر بخش هوایی گیاه گلرنگ را در حضور قارچ *G.intraradices* گزارش کردند. مصرف همزمان باکتری آزوسپریلیوم و اسیدهیومیک بر وزن تَر اندام هوایی گیاه نعناع‌فلفلی مؤثر بوده است (Asgari *et al*., 2011). استفاده از اسیدهیومیک برروی نشاء گوجه فرنگی و بادمجان باعث افزایش معنی‌دار وزن تَر اندام هوایی شد (Guvenc & Duresun, 2000). مایه‌زنی گیاه آفتابگردان با باکتری *Azospirillum* وزن تَر گیاه را به‌طور قابل‌توجهی افزایش داد (Gehan & Abo-Baker, 2010). کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار نسبت به باکتری *سودوموناس فلورسنس* در افزایش وزن تَر اندام هوایی گیاه سورگوم از کارآیی بیشتری برخوردار بوده است (Widada, 2007). مصرف توأم باکتری *سودوموناس فلورسنس* و قارچ مایکوریز *Glomus mosseae* نیز تأثیر معنی‌دار بر وزن تَر اندام هوایی گیاه ذرت نداشته است (Ghorchani *et al*., 2012).

وزن خشک هوایی

تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر اصلی اسیدهیومیک و قارچ میکوریز در سطح احتمال یک درصد و اثر باکتری و نیز اثر متقابل باکتری و قارچ میکوریز در سطح احتمال پنج درصد بر وزن خشک بخش هوایی گیاه لوبیا معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده اسیدهیومیک نشان داد که افزایش میزان مصرف این کود آلی موجب افزایش

وزن خشک گیاه لوبیا شد، به‌طوری‌که مصرف ۴۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدهیومیک بیشترین میانگین وزن خشک بخش هوایی گیاه (۳/۹۸ g) و عدم مصرف اسیدهیومیک کمترین میانگین وزن خشک بخش هوایی گیاه (۳/۲۵g) را نشان داد و بین هر سه سطح اسیدهیومیک اختلاف معنی‌دار وجود داشت (شکل ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و باکتری نیز نشان داد کمترین میانگین (۲/۶۰۸ g) مربوط به تیمار M_0S_0 و بیشترین میانگین (۳/۰۲۶ g) مربوط به تیمار M_0S_1 می‌باشد.

در پژوهشی دو باکتری حل‌کننده فسفات از جنس *باسیلوس* و یک باکتری از جنس *سودوموناس*، در محیط آزمایشگاهی باعث افزایش معنی‌داری وزن خشک ساقه گیاه سیب زمینی شدند (Abdalla *et al*., 2001). تأثیر مایه تلقیح باکتری *آزوسپیریلوم* و قارچ همزیست میکوریزا *Glomus intraradices* بر وزن خشک گیاه سیاه‌دانه را بررسی نمودند و دریافتند تلقیح بذر سیاه‌دانه با کودهای بیولوژیک باعث افزایش معنی‌دار در وزن خشک گیاه شده است (Khoramdel *et al*., 2008).

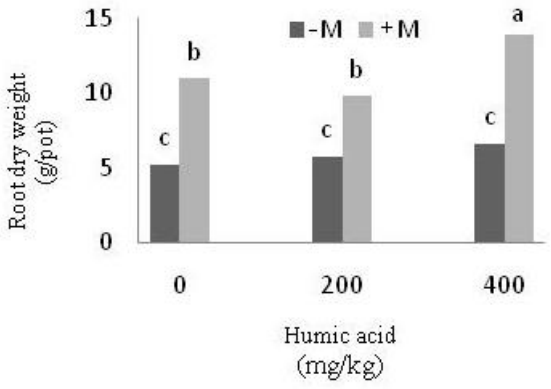


شکل۴- اثر اسیدهیومیک بر وزن خشک اندام هوایی
Fig. 4. Effect of Humic acid on shoot dry weight

محققان در بررسی بر روی گیاه ذرت به نتایج مشابهی دست یافتند و اظهار داشتند اثر متقابل باکتری سودوموناس فلورسنس و قارچ میکوریز بر روی وزن خشک این گیاه مؤثر بوده است (Ghorchani *et al*., 2012). باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن شامل *آزوسپریلیوم*، *سودوموناس* و *ازتوباکتر* از طریق همیاری با ریشه گیاهان موجب افزایش سطح جذب رطوبت می‌شود و این شبکه گسترده ریشه‌ای از طریق جذب آب و املاح و انتقال آن‌ها به گیاه میزبان موجب افزایش سطح برگ و در نتیجه وزن خشک آن می‌شود (Sprent & Sprent, 1990). در یک آزمایش گلخانه‌ای با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم اسیدهیومیک، وزن تَر و خشک گیاه به‌طور معنی‌دار افزایش یافت (Mishra *et al*., 1998). مخلوط‌کردن اسیدهیومیک با خاک در مورد گیاهچه‌های فلفل و بادمجان وزن تَر ساقه و وزن خشک را افزایش داد (Padem *et al*., 1991). محققی اثر اسیدهیومیک بر گندم را بررسی نمود و دریافت که این ماده آلی وزن خشک ساقه و باروری سنبله را افزایش داد (Shariff, 2002). همچنین اسیدهیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (Delfine *et al*., 2005).

وزن خشک ریشه

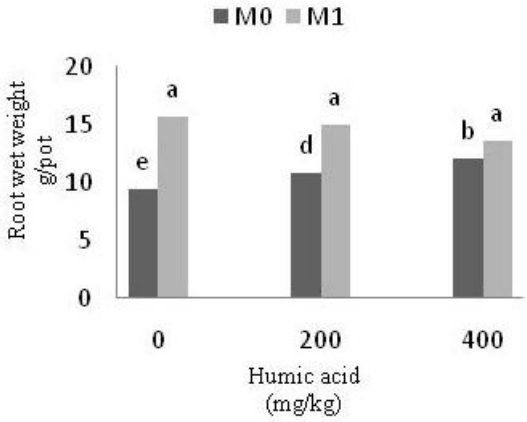
تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر اصلی قارچ میکوریز و اسیدهیومیک در سطح احتمال یک درصد و مصرف توأم قارچ میکوریز و اسیدهیومیک در سطح پنج درصد بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ میکوریز و اسیدهیومیک (شکل ۵) نشان داد تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف تیمارها وجود دارد، به‌طوری‌که کمترین میانگین وزن خشک ریشه (۵/۲۲ g) مربوط به عدم مصرف قارچ میکوریز و اسیدهیومیک (تیمار M_0H_0) بود. همچنین بیشترین میانگین وزن خشک ریشه (۱۳/۹۰ g) مربوط به تیمار M_1H_2 بود. نتایج مقایسه میانگین اثر اسیدهیومیک نیز نشان داد که سطوح مختلف مصرف اسیدهیومیک اختلاف معنی‌دار با یگدیگر دارند و کمترین و بیشترین میانگین وزن خشک ریشه به‌ترتیب در عدم مصرف اسیدهیومیک (۸/۰۹۳g) و مصرف kg^{-1} ۴۰۰ mg اسیدهیومیک (۱۰/۲۷g) مشاهده شد.



شکل۵- اثر متقابل اسیدهیومیک و قارچ بر وزن خشک ریشه
Fig. 5. Interaction effect of Humic acid and Mycorrhiza on root dry weight

وزن تَر ریشه

تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر اصلی باکتری و قارچ میکوریز و اثر متقابل باکتری و قارچ در سطح احتمال یک درصد و اثر توأم اسیدهیومیک و قارچ میکوریز در سطح احتمال پنج درصد بر وزن تَر ریشه معنی‌دار شد و سایر تیمارها اثر معنی‌دار نداشتند. نتایج نشان داد که استفاده از قارچ میکوریز و باکتری باعث افزایش وزن تَر ریشه در گیاه لوبیا می‌شود. مقایسه میانگین اثر توأم باکتری و قارچ میکوریز (جدول ۳) نشان داد که کمترین میانگین وزن تَر ریشه (۱۰/۴۸ g) مربوط به تیمار S_1M_0 و بیشترین میانگین وزن تَر ریشه (۱۶/۶۲ g) S_0M_1 بود. مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ میکوریز و اسیدهیومیک (شکل ۶) نشان داد که کمترین میانگین وزن تَر ریشه گیاه (۹/۴۱۵ g) مربوط به تیمار M_0H_0 و بیشترین میانگین وزن تَر ریشه (۱۵/۷۶ g) مربوط به تیمار M_1H_0 بود.



شکل۶- اثر متقابل اسیدهیومیک و قارچ بر وزن تَر ریشه

Fig. 6. Interaction effect of Humic acid and Mycorrhiza on root wet weight

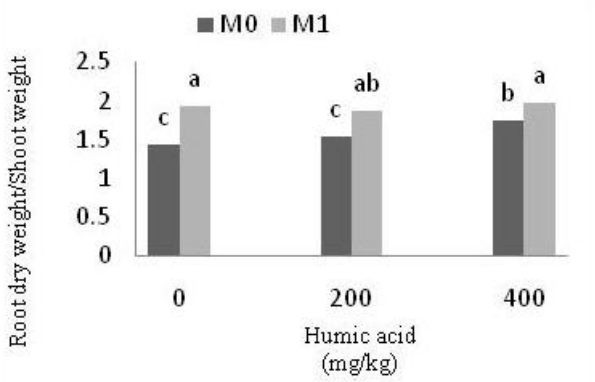
اثر قارچ میکوریز *Glomus etunicatum* بر وزن خشک ریشه و تر گیاه شبدر مؤثر بود (Ghanavati & Nadeian, 2012). در تحقیقی (Azeimi *et al.*, 2013) بر روی گیاه آویشن، مشخص گردید که تلقیح گیاه آویشن باغی با قارچ‌های میکوریز اثر معنی‌داری بر وزن خشک کل اندام هوایی، ریشه، ساقه و ارتفاع گیاه داشت. سازوکار این افزایش احتمالاً به این‌صورت است که ریسه‌ها وارد ریشه شده و سبب کاهش غلظت آبسیزیک‌اسید و باعث افزایش غلظت سیتوکینن شده است که این امر موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب آب و مواد غذایی شده است. قارچ‌ها با تولید هورمون‌های گیاهی و افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌توانند رشد گیاه و ریشه را تشدید کنند؛ در نتیجه ظرفیت جذب عناصر غذایی را بالا برده و شانس گیاه را در اجتناب از خشکی بالا می‌برد (Barea *et al*,. 2005; Swift, 2004). آزمایشات نشان داد که به‌کاربردن اسیدهیومیک در سویا، بادام زمینی و شبدر رشدیافته در شن، رشد ساقه، وزن خشک گره‌ها و به‌خصوص رشد ریشه را افزایش داد (Tan & Tantiwiramanond, 1983). مقدار ۳۰کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به‌طور معنی‌داری عملکرد ماده خشک ریشه و ساقه را افزایش داد (Malcolm & Vaghuan, 1979). اسیدهیومیک می‌تواند تأثیر بسیار مثبتی بر فیزیولوژی گیاه داشته باشد و باعث توسعه ریشه و ریشه‌های جانبی گردند. محققان (Khazaei *et al.*, 2009) تأثیر هیومیک‌اسید را بر روی رشد ریشه ذرت مورد بررسی قرار دادند و دریافتند هیومیک اسید با مصرف ۳میلی‌مولار می‌تواند باعث توسعه ریشه ذرت شود و نسبت وزن تازه و خشک ریشه را افزایش دهد (Orlov & Biryukova, 1996).

نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

نتایج جدول۲ تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد اثر اصلی قارچ میکوریز و باکتری در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی اسیدهیومیک و اثر متقابل اسیدهیومیک و قارچ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که مصرف قارچ میکوریز و باکتری باعث افزایش میانگین نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گردید. همچنین با توجه به شکل۷، مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ میکوریز و اسیدهیومیک نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد و کمترین میانگین نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۱/۴۴۲) تیمار M_0H_0 و بیشترین میانگین نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۱/۹۷۲) به تیمار M_1H_2 اختصاص داشت. مقایسه میانگین مصرف اسیدهیومیک نیز اختلاف معنی‌داری نشان داد و سطح صفر

اسیدهیومیک H_0 کمترین میانگین نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۱/۶۸۸) و سطح دوم اسیدهیومیک H_2 بیشترین میانگین نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۱/۸۶۲) را دارا بود.

محققان (Azeimi *et al*., 2013) در پژوهشی دریافتند *G. intraradices* باعث افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی شد. مصرف اسیدهیومیک بر نسبت وزن خشک ریشه نسبت به اندام هوایی گیاه گندم اثر معنی‌دار داشت (Sabzevari & Khazaeii, 1999). نتایج مشابهی نیز در آزمایش دیگری (Taylor & Cooper, 2004) به‌دست آمد. گزارش‌ها، تأثیر مفید باکتری محرک رشد را بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی نشان می‌دهد که آن را به تولید هورمون‌هایی مانند اکسین، جیبرلین وسیتوکینن نسبت می‌دهند (Cardoso & Kuyper, 2006; Barea *et al*., 2005).



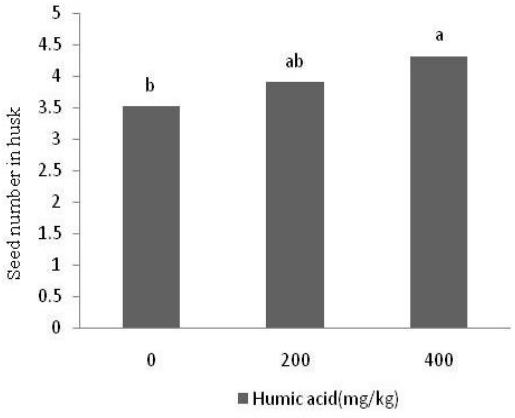
شکل ۷- اثر متقابل قارچ و اسیدهیومیک بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

Fig. 7. Interaction effect of Humic acid and bacteria on root dry weight/shot weight

تعداد دانه

جدول ۲ تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر اصلی قارچ میکوریز و اسیدهیومیک (شکل ۸) در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی باکتری و اثر توأم باکتری و قارچ در سطح احتمال پنج درصد بر تعداد دانه لوبیا معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ و باکتری (جدول ۳) نشان می‌دهد که بیشترین میانگین تعداد دانه در هرغلاف (۳/۰۱۶) و کمترین میانگین تعداد دانه در هرغلاف (۲/۳۰۸) به‌ترتیب مربوط به تیمار M_0S_0 و M_1S_1 می‌باشد. مقایسه میانگین اثر اصلی اسیدهیومیک نشان داد که افزایش مقدار اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌دار تعداد دانه می‌شود به‌طوری‌که بیشترین میانگین این صفت (۴/۳۳) مربوط به $400 mg\ kg^{-1}$ و کمترین میانگین آن (۳/۵۳) مربوط به عدم استفاده از اسیدهیومیک می‌باشد.

محققان در پژوهشی بر روی گیاه لوبیا سبز دریافتند که تیمار کودهای زیستی و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار دارای بیشترین تعداد دانه در غلاف نسبت به شاهد بودند (Karimi *et al*., 2013; Smith *et al*., 1997) که این امر موجب فتوسنتز بیشتر، بهبود رشد گیاه و در نتیجه باعث افزایش زیست‌توده گیاه و تعداد دانه می‌گردد. اسید هیومیک سبب افزایش تعداد دانه در ذرت شد که دلیل آن تأثیر مثبت اسیدهیومیک در بهبود فتوسنتز و افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه بود. اسیدهیومیک به‌دلیل دردسترس‌قراردادن عنصر فسفر و سایر عناصر غذایی برای گیاه، سبب افزایش عملکرد در واحد زایشی و دانه‌بندی شده است (Sharif, 2002).

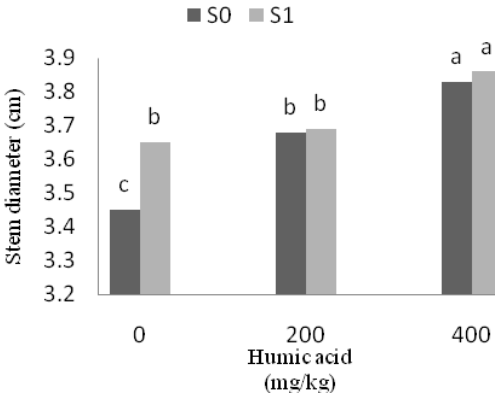


شکل ۸- اثر اسیدهیومیک بر تعداد دانه درغلاف

Fig. 8. Effect of Humic acid on seed number in husk

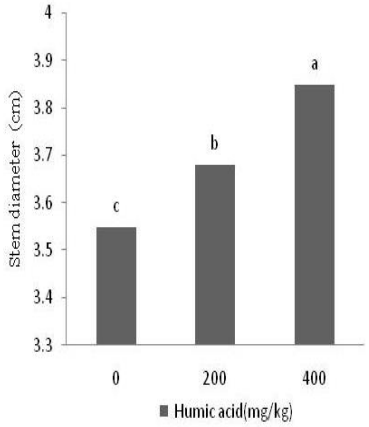
قطر ساقه

جدول (۲) تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر اصلی اسیدهیومیک (شکل ۱۰) و قارچ میکوریز در سطح احتمال یک درصد و اثر اصلی باکتری و اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری نیز در سطح احتمال پنج درصد بر قطر ساقه معنی‌دار شد (شکل ۹). نتایج مقایسه میانگین نشان داد کمترین میانگین قطر ساقه گیاه لوبیا (۳/۵۵ cm) مربوط به سطح صفر اسیدهیومیک H_0 و بیشترین میانگین قطر ساقه (۳/۸۵ cm) مربوط به سطح سه اسیدهیومیک H_2 بود. همچنین مقایسه میانگین اثرات متقابل اسیدهیومیک و باکتری نشان داد که کمترین میانگین قطر ساقه (۳/۴۵ cm) مربوط به تیمار S_0H_0 و بیشترین میانگین قطر ساقه (۳/۸۶۷ cm) مربوط به تیمار S_1H_2 بود.



شکل۹- اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری بر قطر ساقه

Fig. 9. Interaction effect of Humic acid and Bacteria on stem diameter



شکل۱۰- اثر اسیدهیومیک بر قطر ساقه

Fig. 10. Effect of Humic acid on stem diameter

قطر ساقه از صفاتی است که استحکام گیاه و به‌ویژه مقاومت آن را در برابر ورس مشخص می‌نماید. در پژوهشی بر روی گیاه سورگوم (Ghorchani *et al.*, 2012)، *G. mosseae* سبب افزایش قطر ساقه نسبت به عدم کاربرد قارچ میکوریز شد. باتوجه به نتایج حاصل می‌توان چنین نتیجه گرفت که گیاه به‌علت موجودبودن میکوریز در خاک توانسته است عناصر و املاح مورد نیاز خود را به مقدار زیاد تهیه کند که این امر افزایش قطر ساقه را دربرداشته است. در آزمایشی بر روی گیاه گلرنگ (Rahimi *et al.*, 2013)، باکتری *سودوموناس پوتیدا نسبت* به تیمار شاهد بیشترین طول و قطر ساقه را داشت. به‌نظر می‌رسد باکتری جنس *پوتیدا* با فعالیت بیشتر، رشد گیاه را به‌وسیله تغییر توازن هورمونی تسهیل و با تولید هورمون اکسین بر برخی از قسمت‌های گیاه از قبیل افزایش طول سلول، تقسیم سلولی، تمایز ریشه، قطر ساقه، بیوسنتز اتیلن و تغییر بیان ژن‌های خاص تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rolfe *et al.*, 2011). مصرف اسیدهیومیک به‌صورت محلول و یا پودر در خاک باعث افزایش طول و قطر ساقه گندم شده است (Taylor & Cooper, 2004). کاربرد اسیدهیومیک بر روی گیاه بادمجان (Padem *et al.*, 1991) و فلفل (Shariff, 2002) بر قطر ساقه گیاه معنی‌دار بوده است.

وزن دانه در گلدان

تجزیه واریانس (جدول۲) نشان داد که اثر اصلی قارچ میکوریز در سطح احتمال یک درصد و مصرف توأم قارچ و باکتری و اثر متقابل باکتری و اسیدهیومیک در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار بر صفت وزن دانه داشت. مقایسه میانگین اثر توأم باکتری و قارچ نشان داد که کمترین میانگین وزن دانه در گلدان (۱۹/۴۳ g) مربوط به تیمار M_0S_0 و بیشترین میانگین وزن دانه در گلدان (۲۱/۸۶g) مربوط به تیمار M_1S_1 بود. شکل۱۲ مقایسه میانگین اثر اسیدهیومیک را نشان می‌دهد، به‌طوری‌که کمترین میانگین وزن دانه (۱۹/۶۲۱g) مربوط به تیمار H_0 و بیشترین میانگین وزن دانه (۲۱/۸۹۶g) به تیمار H_2 اختصاص داشت. شکل۱۱ مقایسه میانگین مصرف توأم باکتری و اسیدهیومیک و اختلاف معنی‌دار در سطوح مختلف مصرف را نشان داد و کمترین میانگین وزن دانه (۱۸/۰۴g) را تیمار S_0H_0 و

بیشترین میانگین وزن دانه (۲۳/۷۴۷g) را تیمار S_1H_2 داشت.

قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های محرک رشد با بهبود تغذیه و رشد گیاهان باعث افزایش عملکرد می‌شود (Gehan & Abo-Baker, 2010). محققان گزارش کردند مایه‌زنی آفتابگردان با قارچ میکوریز *G. fasciculatum* وزن دانه را به‌میزان ۱۴درصد افزایش داد (Chandrashekara *et al*., 1995). نتیجه مشابهی با قارچ *G.intraradices* به‌دست آمد و قارچ میکوریز باعث افزایش مقدار فسفر در گیاه گردید (Babaei *et al*., 2012). فسفر فتوسنتز گیاه را افزایش داده و به تبع آن موجب افزایش عملکرد دانه می‌شود. این اثر به‌دلیل نقش‌های حیاتی فسفر در گیاه است. فسفر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه درگیر است و به‌خصوص در مراحل گرده‌افشانی و پُرشدن دانه ضروری است (Babaei *et al*,. 2012). افزایش عملکرد دانه گندم بر اثر تلقیح با سویه‌هایی از سودوموناس گزارش شده است (Ferrol *et al*., 2009). کاربرد همزمان باکتری محرک رشد و اسیدهیومیک بر عملکرد دانه گندم افزایش معنی‌دار داشت (Davodifr *et al*., 2012). اسیدهیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاهان با بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و بیولوژی خاک تغییر می‌دهد (Balakumbahan & Rajamani, 2010). محققان افزایش عملکرد دانه با تلقیح باکتری‌های محرک رشد را به دلایلی همچون ترشح انواع هورمون‌ها که سبب افزایش رشد ریشه و جذب آب و مواد غذایی از خاک می‌شود، مربوط می‌دانند (Egamberdievva & Hoflich, 2004).

جدول۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا تحت تأثیرباکتری، قارچ و اسیدهیومیک

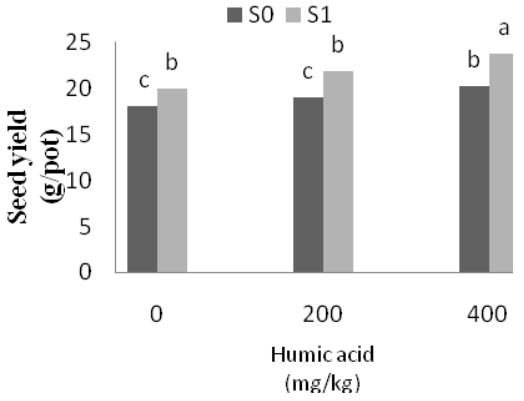
Table 2. Analysis of variance evaluated agronomy traitof beaninfluenced by humic acid, pseudomonas and Mycorrhiza

منابع تغییرات	درجه‌آزادی	میانگین مربعات								
Sources of variation	df	ارتفاع بوته Plant height	وزن تَر هوایی Wet shoot weight	وزن خشک هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تَر ریشه Root wet weight	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی Root dry weight/shoot	تعداد دانه در غلاف Seed no in husk	قطر ساقه Stem diameter	وزن دانه در گلدان Seed weight
اسیدهیومیک Humic acid	2	0.308^{ns}	1.463^{ns}	24.071**	1.428**	0.317^{ns}	7.443*	24.071**	51.368**	18.431^{ns}
باکتری Bacteria	1	0.31^{ns}	0.451^{ns}	5.033*	0.001^{ns}	40.817**	7.0549**	5.033*	10.315*	11.941^{ns}
قارچ Mycorrhiza	1	3.894*	6.276**	14.261**	0.123**	141.385**	71.009**	14.261**	76.001**	23.16**
اسیدهیومیک*باکتری Ha* B.	2	5.221**	4.257*	1.607^{ns}	0.007^{ns}	0.218^{ns}	0.786^{ns}	1.607^{ns}	6.526*	*21.221
اسیدهیومیک *قارچ M.*Ha	2	0.679^{ns}	4/289*	0.434^{ns}	0.024**	17.172*	3.775*	0.434^{ns}	0.215^{ns}	19.659^{ns}
باکتری*قارچ B.M.	1	0.635^{ns}	0.0361^{ns}	4.964*	0.004^{ns}	34.232**	1.640^{ns}	4.964*	4.263^{ns}	22.946*
اسیدهیومیک *باکتری*قارچ Ha* M.*B.	2	1.035^{ns}	0.736^{ns}	1.359^{ns}	0.002^{ns}	9.609^{ns}	1.561^{ns}	1.359^{ns}	0.263^{ns}	10.035^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	24	1.172	4.103	0.044	0.005	1.018	0.015	0.044	0.528	1.002
ضریب تغییرات٪ CV%		3.66	17.96	5.88	12.67	7.90	7.06	5.88	1.97	10.43

ns، * و **: به‌ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطوح پنج و یک درصد

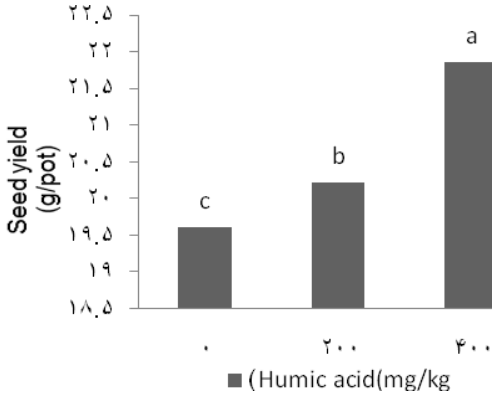
Ns, * and ** represent non significant, significant at p<0.05 and p<0.01, respectively

Ha: Humic acid, B: Bacteria (*psodomunas)*, M: Mycorrhiza



شکل۱۱- اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری بر عملکرد دانه

Fig. 11. Interaction effect of Humic acid and Bacteria on seed yield



شکل۱۲- اثر اسیدهیومیک بر عملکرد دانه

Fig. 12. Effect of Humic acid on seed yield

نتیجه‌گیری

تجزیه و تحلیل تیمارهای مورد آزمایش در این تحقیق به‌طور کلی نشان داد که تیمارهای اعمال‌شده بر اکثر خصوصیات صفات زراعی لوبیا مثبت بوده و اسیدهیومیک توانست به‌طور مستقیم اثرات مثبتی بر رشد گیاه بگذارد. رشد قسمت هوایی و ریشه گیاه توسط اسیدهیومیک تحریک می‌شود، ولی اثر آن بر روی ریشه برجسته‌تر است و حجم ریشه را افزایش داده و باعث اثربخشی سیستم ریشه می‌گردد. اسیدهیومیک جذب نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر را توسط گیاه افزایش می‌دهد. اثر افزایشی مایکوریزا را پژوهشگران مختلف در درجه اول به افزایش سطح و گسترش ریشه‌های گیاه به‌واسطه تولید ریسه‌های قارچی و افزایش جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آب و سایر عناصر غذایی و در ادامه بهبود فتوسنتز و رشد و نمو و توسعه اندام های هوایی و در نهایت افزایش وزن خشک گیاه نسبت می‌دهند. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، می‌توان اظهار کرد که تلقیح باکتریایی گیاهان با باکتری *سودوموناس پوتیدا* سبب بهبود رشد و جذب عنصر غذایی گردید. این موضوع در کاهش هزینه‌ها، حفظ سلامتی خاک و تولیدات کشاورزی تأثیر به‌سزایی می‌تواند داشته باشد.

جدول۳- مقایسه میانگین صفات زراعی مورد بررسی لوبیا تحت تأثیر باکتری، قارچ و اسیدهیومیک

Table 3. Mean comparison ofbeanagronomy traitinfluenced by mycorrhiza, bacteria and humic acid

تیمار (Treatment)		وزن تَر ریشه Wet root weight (g pot^{-1})	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی Dry root wt/shoot wt	تعداد دانه در غلاف Seed No in husk	وزن دانه در گلدان Seed weight (g pot^{-1})
M^-	S_0	11.08^c	1.496^c	2.608^d	19.43^b
	S_1	10.48^c	1.896^a	3.026^a	20.32^{ab}
M^+	S_0	16.62^a	1.658^b	2.824^c	20.56^{ab}
	S_1	12.93^b	1.952^a	2.927^b	21.865^a

در هر ستون و در هرگروه تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

Means with similar letters in each column are not significantly different ($p<0.05$)

S: *psodomunas;* M: Mycorrhiza

منابع

1. Abdalla, M.H., and Omar, S.A. 2001. Survival of *Rhizobia bradi* Rhizobia and aroch phosphate solubilization fungus *Aseorgillus nigeron* various carrier prom some agroinduster wastes and their effect on nodulation and growth of pahabean and soybean. Plant Natutrition 24: 72-261.
2. Adeleye, E.O., Ayeni, L.S., and Ojeniyi, S.O. 2010. Effect of poultry manure on soil physico-chemical properties, leaf nutrient contents and yield of Yam (*Dioscorea rotundata*) on Alfisol in Southwestern Nigeria. American Journal of Science 6: 870-878.

3. Aliasgharzad, N. 2000. Study on Dispersion and Compaction on Mycorriza Arbascular Population in Salin Soil of Tabriz Plain and affect of Inoculation on Improvement Onion and Barely in Salinity Tolerance. Ph.D Thesis, Agriculture College, Tahran University, Iran. (In Persian with English Summary).
4. Antouan, H., and Klopper, W.J. 2001. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Academic Press. p: 1470-1488.
5. Arancon, NQ., Edwards, CA., Atiyeh, RM., and Metzger, JD. 2004. Effects of vermicomposts produced from food waste on greenhouse peppers. Bioresource Technology 93: 139-144.
6. Arancon, NQ., Edwards, CA., Lee, S., and Byrne, R. 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. European Journal of Soil Biology 42: 65-69.
7. Asadi, H., and Falah, A.R. 2000. Necessity of biological fertilizer productionfor plant growth and its propagation. Soil and Water Journal, Soil Biology 12(7): 97-105. (In Persian with English Summary).
8. Asgari, M., Habibi, D., and Brojerdi, G. 2011. Study on the application of vermicompost, growth stimulating bacteria and humic acid on growth index of peppermint in central province. Journal of Agronomy and Plant Breeding 7(4): 41-54. (In Persian with English Summary).
9. Azeimi, R., Jangjoo, M., and Asghari, H.R. 2013. Effect of Mycorrhiza on pre-establishment and physiological properties of garden oregano in natural condition. Iranian Journal of Agronomy Research 11(4): 666-676. (In Persian with English Summary).
10. Babaei, M., Ardakani, M.R., Rejali, F., Shirani Rad, A.H., Golzardi, F., and Mafakheri, S. 2012. Response of agronomical traits of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to co-inoculation with *Glomus intraradices* and *Pseudomonas fluorescens* under different phosphorus levels. Annals of Biological Research 3: 4195-4199. (In Persian with English Summary).
11. Balakumbahan, R., and Rajamani, K. 2010. Effect of Biostimulant on growth and yield of senna. Journal of Horticulture Science and Ornamental Plant 2(1): 16-18.
12. Banchio, E., Bagino, P., Zygadlo, J., and Giordano, W. 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. Biochemistry Systemic Ecology 36: 766-771.
13. Barea, J.M. Werner, D., Azcón-Guilar, C., and Azcón, R. 2005. Interactions of Mycorrhiza arbuscular and nitrogen-fixing symbiosis in sustainable agriculture. D. Werner and W.E. Newton (Eds.). Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment 4: 199-222.
14. Bayat, A.A., Sephri, A., Ahmad, G., and Dorri, H.R. 2010. Effect of water deficit stress on yield and yield component of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Crop Sciences 12(1): 42-54.
15. Biswas, J.C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G., and Rolfe, B.G. 2000. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agronomy Journal 92: 880-886.
16. Busato, JG., Lima, LS., Aguiar, N.O., Canellas, LP., and Olivares, F. L2002. Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus-solubilizing and diazotrophic bacteria. Bioresource Technology110: 390-395.
17. Journal of Crop Science 12(1): 42-54. (In Persian with English Summary).
18. Cardoso, I.M., and Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agricultur Ecosystems and Environment 116: 72-84.
19. Chandrashekara, C.P., Patil, V.C., and Sreenivasa, M.N.1995. Response of two sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes to VA-mycorrizal inoculation and phosphorus levels. Biotopia 8: 53-59.
20. Darzei, M.T. Ghalavand, A., and Rajali, F. 2008. Study on the mycorizea, vermicopost andbio-phosphate fertilizer application on flowering, biological yield and root symbiosis in fennel plant. Iranian Journal of Agronomy Science 10(1): 88-109. (In Persian with English Summary).
21. Davodifar, M., Habibi, D., and Davodifar, F. 2012. Study on the saline stress on sustainability of cytoplasm membrane, cholorophyll content and yield components of wheat inoculated with growth stimulating bacteria and humic acid. Journal of Agronomy and Plant Breading 8(2): 71-86. (In Persian with English Summary).
22. Davison, J. 1998. Plant beneficial bacteria. Biotechnology 6: 282-286.
23. Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E., and Alvino, A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum weath. Agronomy Sustainable Develoment 25: 183-191.
24. Dolatabadi, H.K., Goltape, E.M., Moeini, A., Jaimand, B., Sardrood, P., and Varma, A. 2011. Effect of Priformospora indica and sebacina vemifera on plant growth and essential oil yield on *Thymus vulgaris* invitro and invivo experiments. Symbiosis 53: 29-35.
25. Duresun, A., and Guvenc, I. 2000. Effects of different level of humic acid on seedling growth of tomato and eggplant. ISHS Acta Horticultur 491.

26. Egamberdievva, D., and Hoflich, G. 2004. Influence of growth promoting bacteria on the growth wheat in different soils and temperature. Soil Biology Biochemistry 35: 973-978.
27. Ferrol, N., and Perez-Tienda, J. 2009. Coordinated nutrient exchange in arbuscular mycorrhiza In: C. Azcon-Aguilar, J. Barea, S. Gianiazzi and S. Pearson. Mycorrhizas-Fanctional Proccesses and Ecological Impact. Pp: 73-87.
28. Gehan, G.M., and Abo-Baker A. 2010. Effect bio and chemical fertilization on growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) at south valley area. Asian Journal of Crop Science 2: 137-146.
29. Ghanavati, N., and Nadeian, H. 2012. Effect of mycoraizea arbascolar on berseem plant growth under three different swage. Journal of Physiology of Agronomy Plants 5(17): 17-30. (In Persian with English Summary).
30. Ghorchani, M., Akbari, G., Alikhanu, H., Zarei, M.V., and Dadi, A. 2012. Interaction of Mycorrhiza arbuscular and bacteria pseudomonas fluorescence on efficiency of phosphorus fertilizer use and Mycorrhiza dependence of maize under low water. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Soil and Water 17(63): 123-136. (In Persian with English Summary).
31. Karimi, K., Bolandnazar, S., and Ashori, S. 2013. Effect of biological fertilizers and mycorrihza arbascolar on yield, growth properties and green bean qualities. Journal of Agricultural Science and Sustainable Products 23(30): 392-400. (In Persian with English Summary).
32. Kay, D., Edwards, A.C., Ferrier, R.C., Francis, C., Kay, C., Rushby, L., Watkins, J., McDonald, A.T., Wyer, M., Crowther, J., and Wilkinson, J. 2007. Catchmentmicrobial dynamics: the emergence of a research agenda. Progress Physical Geology 31: 59-76.
33. Khazaei, H., Sabzevari, S., and Kafi, M. 2009. Effect of humic acid on root and shoot growth of wheat varieties sayons and sabalan. Journal of Water & Soil 23(2): 87-94. (In Persian with English Summary).
34. Khoramdel, S., Kochakei, A.L., Naseirimahalatei, M., and Ghorbani, R. 2008. Effect of biological fertilizer on *Nigella sativa* growth index. Journal of Agricultural Research 6(2): 285-294. (In Persian with English Summary).
35. Lue, C., Cooper, R.J., and Bowman, D.C. 1996. Humic acid application affects synthesis root, and nutrient content of creeping bentgrass. Horticultural Science 33(6): 1023-1025.
36. Malcolm, R.E., and Vaghuan, D.A. 1979. Humic substances and phosphatas activities in plant tissues. Soil Biology Chemistry 11: 253-259.
37. Mirzakhani, M., Ardakani, M.R., Aeeneband, A., Shiranirad, A.H., and Rejali, F. 2009. Effects of Co-inoculation of Azotobacter and Mycorrhiza under Nitrogen and Phosphorus Levels on Nutrients Absorbtion Efficiency in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Ph.D Thesis of Agricultural on Agronomy. Islamic Azad University Science and ResearchBranch-Khouzestan, Iran. (In Persian with English Summary).
38. Mishra, M., Patjoshi, A.K., and Jena, D. 1998. Effect of biofertilization on production (*Zea mays*) of maize. Indian Journal Agronomy 43: 307-310.
39. Muscolo, A., Panuccio, M.R., Abenavoli, MR., Concheri, G., and Nardi, S.1996. Affect of molecular complexity and acidity of earthworm faeces humic fractions on glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase, and phosphoenolpyruvate carboxylase in Daucus carota a ll cells. Boil fertile Soils 22: 83-88.
40. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture Circular 939: 1-19.
41. Orlov, D.S., and Biryukova, O. 1996. Humic substances of vermicomposts. Agrokhimiya 12: 60-67.
42. Padem, H., Ocal, A., and Alan, R. 1991. Effect of humic acid added foliar fertilizer on quality and nutrient content of eggplant and pepper seedlings. Acta Horticulture 491(35): 241-246.
43. Parsa, M., and Bagheri, A. 2008. Pulses. Mashhad University. 522p. (In Persion).
44. Peiranosheh, H.Y., Emmam, V., and Jamali, R. 2010. Comparison of biological fertilizer and chemical fertilizer on growth and yield and oil percentage of sunflower (*Helianthus annuss* L.) in different levels of dry stress. Agroecology Journal 2(3): 491-501. (In Persian with English Summary).
45. Pinton, R., Cesco, S., Iacolettig, G., Astolfi, S., and Varanini, Z. 1999. Modulation NO_3- Uptake by water extractable humic substances: involvement of root plasama membrane H+ ATPase. Plant and Soil 215: 155-161.
46. Rahimi, A., Alahmadi, M., Khavazei, K., Sayari, M., and Yazdani, R. 2013. Different effect of pseudomonas fluorescence on quantity and quality properties of *Carthamus tinctorius*. Journal of Plant Eco-physiology 5(14): 1-16. (In Persian with English Summary).
47. Rolfe, B.G., Djordjevic, M.A., Weinman, J.J., Mathesius, U., Pittock, C., Gartner, E., Ride, K.M., Schnepf, A., Jones, D., and Roose, T. 2011. Modelling nutrient uptake by individual hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi: temporal and spatial scales for an experimental design. Bulltain Mathematical Biology 73: 2175-2200.

48. Sabzevari, S., and Khazaeii, H.R. 1999. Effect of foliar application with different levels of humic acid on growth properties, yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum.* L.) Pishtaz variety. Journal of Agricultural Ecology 1(2): 53-63. (In Persian with English Summary).
49. Safapour, M. 2010. Effect of binary inoculation of mycorizea and rizobiom on three verities of kidney bean. Journal of New Findings in Agriculture 5(1): 20-35. (In Persian with English Summary).
50. Saleh Rastein, N. 2001. Biological fertilizers and their role in their direction to sustainable agriculture. Report Papers in Essential of Biological Fertilizer Production in Country. P.1-54. (In Persion).
51. Seran, T.H., Srikrishnah. S., and Ahamed, M.M.Z. (2010). Effect of different levels of inorganic fertilizers and compost as basal application on the Effgrowth and yield of onion (*Allium cepa* L.). Journal of Agricultural Science 5(2): 64-70.
52. Shariff, M. 2002. Effect of Lignitic Coal Derived HA on Growth and Yield of Wheat and Maize in Alkaline Soil. Ph.D Thesis, NWFP Agriculture Univiversity Peshawar, Pakistan.
53. Smith, S.E., and Read, D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd Edn. London: Academic.
54. Sprent, J.I., and Sprent, P.1990. Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects. Chapman and Hall London, 256.
55. Swift, C.E. 2004. Mycorrhiza and Soil Phosphorus Levels. Area Extension Agent. http://www.colostate. edu/Depts/Coop Ext/TRA/Plants/ mycorrhiza.
56. Tan. K.H., and Tantiwiramanond, D. 1983. Effect of humic acids on nodulation and dry matter production of soybean, peanut, and clover. Soil Science Society American Journal 47: 1121-1124.
57. Tasang, A., and Maum, M.A. 1999. Mycorrhizal fungi increase salt tolerance of Strophostyles helvola in coastalforedunes. University of Waterloo, Canada. Plant Ecology 144: 159-166.
58. Taylor, G., and Cooper, L. 2004. Humic Acid: The Root to Healthy Plant Growth. California State. Science Fair.
59. Walkley, A.J,. and Black, I.A. 1934. Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
60. Wahyudi, A., Astuti, I., and Giyanto, R. 2011. Screening of *Pseudomonas* sp. isolatedfrom rhizosphere of soybean plant as plant growth promoter and bio-controlAgent". American Journal of Agricultural and Biological Sciences 6(1): 134-144.
61. Widada, J., Damarjaya, D.I., and Kabirun, S. 2007. The interactive effect of arbuscular mycorhizal fungi and rhizobacteria om growth and nutrient uptake sorghum in acid soil. First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization Development. Plant Soil 102: 173-177.
62. Zahir, A.Z., Arshad, M., and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. Advancees in Agronomy 81: 97-168.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 8, No. 1, 2017, p. 97-112

Effect of mycorrhiza, pseudomonas bacteria and humic acid on growth indices of bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Shahsavani[1*], Sh., Gharanjik[2], Sh. & Jadidoleslam[3], N.

1- Assistant Professor, Soil Science Department (Soil Fertility and Plant nutrition) Faculty of Agriculture, Shahrood University
2- Assistant Professor, Agronomy and Plant Breeding Department (Biotechnology) Faculty of Agriculture, Shahrood University
3- MSc. student of Soil Science Department, Agriculture College, Shahrud University

Received: 06 October 2015
Accepted: 07 December 2015

DOI: 10.22067/ijpr.v8i1.50327

Introduction

Legumes are very important source of protein after cereals. These plants are capable of biological nitrogen fixation and increasing soil fertility as cover crop or including in crop rotation and reducing soil erosion which improve sustainable agriculture. Increasing use of chemical fertilizer which has negative effect on soil structure which cause unbalance on physical and chemical propertied of soil which ultimately reduce nutrient element absorption. Nowadays due to environmental problems use of biological fertilizers are good substitutions. On the other hand biological fertilizer use improve soil fertility. Protein quantity and quality are basic nutritional problem. According to use of more than 85000 tones chemical fertilizers in legume cultivation in Iran. It is necessary to conduct correct and efficient inoculation for each legume crop in the country including bean, which is one of the important crop for human consumption. In most cases biological fertilizers are complementary of chemical fertilizers in a sustainable agriculture. The aim of this study was to compare the effect of interaction effect of mycorrhiza vesicular, Psodomonas bacteria and humic acid on yield and yield components of bean.

Material & Methods

Mycorrhiza inoculation was prepared in soil science Lab in Tabriz University in sterile sandy loam. Bacterial inoculation *Pseudomonas putida* prepared in soil biology of Tabriz University. Humic acid extraction was done with method of Kay et al., (2004). For Seed bean Phaseolus vulgaris variety Cos-16 from agronomy and plant breeding department of Tabriz University which is resistant to drought. Soils for this experiment were collected from Khalat Poshan research station from 0 to 25 cm depth and passed through 4mm sieve after sun sterile method. Soil physical and chemical properties were estimated with standard methods. Each pot was filled with three kilogram sterile soil. Seventy gram of mycorrhiza inoculation was spread in 5 cm of top soil and then bacteria inoculation was added to soil just below the seeds. Humic acid extracted from vermicompost and applied to soil in the powder form in three levels, control (H0), 200 mg kg^{-1}(H1), and 400 mg kg^{-1} (H2). Pots were place in green house at 25C. After treatment application 5 seeds were sown in each pots and pot moisture kept at 0.9 FC. Pots were irrigated with distilled water whenever needed. After 4 months plant roots and shoot properties and plant yield and yield components were estimated. This experiment was conducted in the form of factorial on the base of complete randomize block design in Tarbiat Moalem University of Tabriz. First and second factor were in two levels, control and applied for mycorrhiza (M0 and M1) and bacteria *P. putida* (S0 and S1) and humic acid in three levels control (H0), 200 mg kg^{-1} (H1) and 400 mg kg^{-1} (H2) in three replications. Data analysis was done with MSTATC and SPSS and mean comparison were done with LSD test for significance and figures drown with Excel 2007.

∗**Corresponding Author:** shahsavani2001@yahoo.com; Mobile: 0912373166

Results & Discussion

Analysis of variance of data for plant height showed that interaction effects of humic acid and bacteria were significant at 1% level and mycorrhiza was significant at 5% level. Mean comparison of results showed that least plant height mean from interaction of humic acid and bacteria with S0H1 treatment with (28.58 cm) and the highest was (30.35cm) with S1H1 treatment. Analysis of variance showed that main effect of mycorrhiza were significant at 1% level and interaction effect of humic acid and bacteria at 5% level on shoot wet weight of bean. Analysis of variance for main effect of humic acid and mycorrhiza were significant at 1% level for shoot dry weight and main effect of bacteria and interaction effect of bacteria and mycorrhiza were significant at 5% level for shoot dry weight of bean. Analysis of variance showed that main effect of mycorrhiza and humic acid were significant at 1% level and interaction effect of mycorrhiza and humic acid at 5% level on root dry weight. Analysis of variance of Mycorrhiza and bacteria main effect on ratio of root dry weight to shoot were significant at 1% level and main effect of humic acid and interaction effect of humic acid and mycorrhiza were significant at 5% level. Analysis of variance showed that main effect of mycorrhiza and humic acid were significant at 1% level and main effect of bacteria and interaction effect of mycorrhiza and bacteria were significant at 5% level for seed numbers of bean. Analysis of variance showed that main effect of bacteria and mycorrhiza and interaction effect of bacteria and mycorrhiza were significant at 1% level and interaction effect of bacteria and mycorrhiza were significant at 5% level on stem length. Analysis of variance showed that main effect of humic acid and mycorrhiza were significant at 1% level and main effect of bacteria and interaction effect of humic acid and bacteria were significant at 5% level for stem diameter. Analysis of variance showed the main effect of mycorrhiza was significant at 1% level and main effect of humic acid and interaction effect of bacteria and mycorrhiza and interaction effect of bacteria and humic acid and main effect of humic acid were significant at 5% level for the seed yield.

Conclusion

Analysis of variance of experiment treatments in this research showed that treatment applied had positive effect on agronomic properties of bean and humic acid could have direct and positive effect on plant root and shoot growth.

Key words: Beans, Humic acid, Grain weight, Mycorrhizal fungi, *Pseudomonas putida*