نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد ۲۷ شماره ۴/ زمستان ۱۳۹۶

ارزیابی تاثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*)

سمیرا منبری[۱]، سعیده علیزاده سالطه[۲]، صاحبعلی بلندنظر[۳]، محمدرضا ساریخانی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۶/٤/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۲۸

۱-دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲-استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳-استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٤-دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* مسئول مکاتبه: Email: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir

چکیده

امروزه بکارگیری ریزموجودات مفید خاکزی با عنوان کودهای زیستی به عنوان مطلوب‌ترین راه حل برای حفظ نظام حیاتی اراضی کشاورزی مطرح است. باکتری‌های آزادکننده پتاسیم، تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفر باعث می‌شوند عناصر بیشتری به صورت قابل جذب در دسترس گیاه قرار گیرد. به منظور بررسی اثر کود زیستی پتابارور۲، باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* و کود اوره بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شنبلیله آزمایشی در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار به اجرا درآمد. تیمارها شامل کود زیستی پتابارور۲، باکتری *(Sinorhizobium meliloti)*، تلقیح *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲، شاهد مثبت (کوددهی مبتنی بر آنالیز خاک) و شاهد منفی (بدون کوددهی و تلقیح) بودند. نتایج نشان داد که صفات تعداد و سطح برگ و همچنین وزن تر و خشک شاخساره تحت تاثیر تیمار *سینوریزوبیوم* در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شدند. تمام صفات فیزیولوژیکی اندازه گیری شده به جز کارتنوئید در سطح احتمال ۱ ٪ و ۵ ٪ معنی‌دار شدند. تلقیح بذر شنبلیله با کود زیستی *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ منجر به افزایش اکثر صفات رویشی و در نتیجه عملکرد شاخساره شد. کاربرد منفرد این کودهای زیستی نتایج بهتری را نسبت به کاربرد تلفیقی آن‌ها داشت. به طور کلی کاربرد *سینوریزوبیوم ملیلوتی* نتیجه بهتر و کارآمدتر را در افزایش عملکرد، صفات کیفی و رشد گیاه شنبلیه نسبت به کود پتابارور۲ و تلقیح *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ را داشت.

کلمات کلیدی: پتابارور۲، سطح برگ، *سینوریزوبیوم*، کود زیستی، کلروفیل

Evaluation of the Effects of Biological and Chemical Fertilizers on Some Physiological and Growth Characteristics of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum)*

Samira Menbari[1], Saeideh Alizadeh Salteh[2], Sahebali Bolandnazar[3], Mohammad Reza Sarikhani[4]

Received: July 11, 2017 Accepted: November 19, 2017
1. Former MSc Student of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2. Assist. Prof. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3. Prof. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
4. Assoc. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
* Corresponding Author: Email: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir

Abstract

Nowadays, the use of soil-born microorganisms as biological fertilizers is considered to be a natural and most desirable solution to maintain sustainability of agricultural soil system. Potassium releasing bacteria, nitrogen fixing and phosphorus dissolving bacteria make mentioned elements available to plants. In order to evaluate the effects of bio-fertilizers Potabarvar 2, *Sinorhizobium meliloti*, as well as urea fertilizer on physiological properties and yield of Fenugreek, an experiment as complete randomized block design was conducted with five treatments and three replications. Treatments included biofertilizer Potabarvar 2, *S. meliloti*, inoculation with a mixture of *Sinorhizobium*+Potabarvar 2, positive control (based on soil analysis) and negative control (no fertilization and inoculation).The results showed that all morphological traits were significant at 1%. Most physiological traits except for carotenoid were significantly affected by *S. meliloti*, and a mixture of *Sinorhizobium*+Potabarvar 2. Seed inoculation with biofertilizer *Sinorhizobium meliloti* and Potabarvar 2 lead to increase in growth and eventually shoot yield. Separate application of these biofertilizers led to better results than the integrated application. Symbiotic relationship of *Sinorhizobium* with Fenugreek increased physiological indices data, especially the absorption of nitrogen and phosphorus, as well as the amount of phenolic antioxidant have been significantly affected. In general, application of *S. meliloti* resulted in better and more effective increase in yield, quality and plant growth than fertilizer Potabarvar 2 and a mixture of *Sinorhizobium*+Potabarvar 2.

Keywords: Biofertilizer, Chlorophyll, Leaf Area, Potabarvr 2, *Sinorhizobium*,

مقدمه

استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی در کشاورزی برای تامین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان موجب ایجاد آثار سوء زیست محیطی شده است. در حال حاضر جهت کاهش این اثرات سوء، از روشهای جایگزین از جمله استفاده از کودهای زیستی مورد توجه قرار

گرفته است. یکی از ارکان کشاورزی پایدار، استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه مصرف نهاده‌های شیمیایی است (شارما ۲۰۰۰). امروزه پایداری سیستم‌های کشاورزی به یکی از مهمترین مسائل در سراسر جهان تبدیل شده است، که بیشتر روی کیفیت خاک متمرکز شده‌اند. عملیات مدیریتی مبتنی بر استفاده از مواد آلی باعث بهبود پایداری سیستم‌های زراعی از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک می‌گردد (ساها و همکاران ۱۹۹۹). حفظ محیط زیست و کاهش مصرف کودهای شیمیایی یکی از اهداف اصلی تولید پایدار در اکوسیستم است (شارما ۲۰۰۰).

بقولات گروه مهمی از گیاهان هستند و در سراسر جهان به عنوان محصولات غذایی و علوفه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. این گیاهان می‌توانند نیاز نیتروژنی خود را از طریق ایجاد همزیستی با گروهی از باکتری‌ها که به باکتری‌های ریزوبیومی معروفند تامین نمایند (لرکی و همکاران ۱۳۹۳). شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) گیاهی علفی، یک ساله و متعلق به تیره بقولات (Fabaceae) است. قسمتهای مختلف گیاه شنبلیله حاوی پروتئین، چربی، فیبر و املاح معدنی مختلف بوده و مقادیر نسبتا بالایی از فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها و دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها را داراست. این گیاه اثرات درمانی زیادی بر روی اغلب بیماری‌ها از جمله نفخ، التهاب، اسهال، سوء هاضمه، سرفه مزمن، بزرگ شدن کبد و طحال دارد و همچنین باعث کاهش قند خون، کاهش فشار خون و تسکین درد می‌شود (جندی ۲۰۱۳).

طیف وسیعی از باکتری‌های خاک در ریزوسفر شناخته شده‌اند که قادر به تقویت رشد و افزایش محصول بسیاری از گونه‌های گیاهان زراعی مهم نظیر حبوبات هستند. این گروه که شامل گونه‌های مختلفی هستند، ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاهان و یا به اختصار PGPR[1] خوانده می‌شوند (ون ۲۰۰۷). کودهای زیستی حاوی انواع مختلفی از این میکروارگانیسم‌های زنده هستند که قابلیت و توانایی تبدیل عناصر مهم مغذی غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس را دارا بوده و منجر به گسترش ریشه و جوانه زنی بهتر بذر می‌شوند (وسی ۲۰۰۳ و ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۰).

از اثرات مستقیم باکتری‌های محرک رشد، ۱- تسهیل در جذب مواد مغذی ۲- تولید ویتامین‌ها ۳- تثبیت نیتروژن اتمسفری ٤- محلول کردن مواد معدنی مانند پتاسیم و فسفر ٥- تولید سیدروفور برای محلول سازی آهن ٦- سنتز فیتوهورمون‌ها ازجمله اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و همچنین سنتز آنزیم-هایی که رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند، می‌باشد (لوسی و همکاران ۲۰۰٤ و گری و اسمیت ۲۰۰٥). از مهم‌ترین مزایای کودهای زیستی، تامین عناصر غذایی، کمک به افزایش تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های حیاتی، کمک به دسترسی آسان ریشه گیاهان به عناصر غذایی به ویژه عناصر پرمصرف و افزایش حلالیت، بهبود کیفیت و حفظ سلامت محیط زیست می-باشد (صالح راستین ۱۳۸۰). پتاسیم بعد از نیتروژن دومین عنصر پر مصرف گیاهی است و تنظیم تورژسانس و پتانسیل اسمزی، فعال سازی چندین آنزیم، تعدیل بار منفی آنیون‌های داخل سلول، باز و بسته شدن روزنه‌ها، بالا نگه داشتن pH سیتوپلاسم و رقابت با یون سدیم در خاک‌های شور از جمله نقش های پتاسیم در گیاهان محسوب می‌شود. بنابراین تغذیه مطلوب پتاسیم و استفاده از روش های نوین سازگار با محیط زیست در این امر می تواند به بهبود رشد گیاهان و اعمال اثرات مثبت پتاسیم منجر شود (مارشنر ۱۹۹٥). کود پتاس بارور۲ حاوی دو باکتری حل کننده پتاسیم است که ترکیبات نامحلول پتاسیم موجود در خاک اطراف ریشه

[1] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

را تجزیه کرده و با رهاسازی این یون دسترسی ریشه گیاهان به یون پتاسیم افزایش می یابد.

همزیستی بین بقولات و باکتری‌های ریزوبیومی، با افزایش ظرفیت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن موجب بهبود رشد گیاه و افزایش حاصلخیزی خاک می‌شود. سینوریزوبیومها با افزایش غلظت نیتروژن موجب افزایش وزن خشک ریشه واندام هوایی و همچنین تعداد گره های روی ریشه و در نتیجه افزایش جذب عناصر مغذی در گیاه شنبلیله شده‌است (لرکی ۱۳۹۲). همچنین در تحقیقی توسط شرقی و همکاران (۱۳۹٤)، کاربرد باکتریهای *سینوریزوبیوم* و *سودوموناس* در شرایط کمبود آب، موجب بهبود عملکرد و سطح برگ و همچنین غلظت عناصر در شنبلیله شده است. با توجه به رویکرد کاهش استفاده از کودهای شیمیایی به دلیل دستیابی به محصولات و محیط زیست سالم و همچنین ارتقای کیفیت محصولات در سیستم کشاورزی پایدار، تحقیق حاضر به بررسی تاثیر باکتریهای محرک رشد بر عملکرد و کیفیت شنبلیله به عنوان یکی از محصولات دارویی مهم پرداخته است.

مواد و روش ها

آزمایش به صورت مزرعه‌ای و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار در سه تکرار در محل ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در خلعت پوشان به اجرا در آمد. لازم به ذکر است که باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز دریافت شد. تیمارهای آزمایش به صورت زیر بودند: تیمار شاهد منفی (بدون تلقیح و کود شیمیایی)، تیمار کود زیستی پتابارور۲، تیمار باکتری *ریزوبیوم (S. meliloti)*، *سینوریزوبیوم*-+پتابارور۲، شاهد مثبت (مبتنی بر آنالیز خاک).

بر اساس آنالیز خاک مزرعه (جدول ۱) با توجه به کافی بودن عناصر فسفر و پتاسیم فقط اوره به میزان ٤۰۰ کیلوگرم در هکتار به تیمار شاهد مثبت اضافه شد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

هدایت الکتریکی ($dS.m^{-1}$)	*pH*	کربن آلی (٪)	فسفر ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم ($mg.kg^{-1}$)	رس (٪)	سلیت (٪)	شن (٪)	بافت
۲/۱۰	۷/٦٥	۰/۱٦۸	۳٦	۰/٥	٤۸۰	۲۱/٥٥	۱٦/٦٦	٦۱/۷۹	*Sandy Clay Loam*

تکثیر باکتری *S. meliloti* در محیط Yeast Manitol Broth (YMB) انجام پذیرفت. برای این منظور از تک کلنی باکتری رشد یافته بر روی محیط YMA برای کشت در محیط YMB استفاده شد و با انتقال تک کلنی باکتری به این محیط و بعد از رسیدن به چگالی نوری برابر با ۰/۸، با حامل مناسب آمیخته شد. از باگاس و پرلیت در نسبت ۱ به ۱ به عنوان حامل استفاده شد، تا جمعیت اولیه باکتری در هر گرم حامل CFU/g ۱۰^۸ باشد. سپس بذور شنبلیله در موقع کاشت با حامل حاوی باکتر آغشته شد.. کشت بذور در بهار سال ۱۳۹٤ در کرت‌هایی به ابعاد دو در چهار متر به صورت ردیفی با فاصله بین خطوط ۳۰ سانتیمتر انجام گرفت. بذرهای شنبلیله بعد از خیسانده شدن در آب به صورت بذر مالی با کودهای بیولوژیک به طور کامل و یکنواخت مخلوط گردیدند. سپس کرت‌ها آبیاری شدند. آبیاری بصورت منظم و به صورت جداگانه و با دقت کامل و بدون تداخل آب کرت‌ها با همدیگر انجام پذیرفت. تنها در تیمار کود کامل بر اساس نتایج آنالیز خاک و جدول توصیه کودی کود اوره در یک نوبت و در زمان کشت استفاده شد و به دلیل کافی بودن عناصر فسفر و پتاسیم از این کودها استفاده نگردید. وجین کرت‌ها هفته-ای دو بار به صورت دستی انجام می‌شد. برداشت در یک مرحله و برای اندازه‌گیری صفات رشدی و فاکتورهای فیزیولوژیکی صورت گرفت.

اندازه گیری تعداد و سطح برگ

به منظور تعیین سطح برگ گیاهان از دستگاه سطح برگ‌سنج[۲] مدل (Li 1300, USA, Lincoln,En) استفاده شد. بدین منظور از هر کرت ۵ بوته به صورت تصادفی در مرحله رویشی انتخاب و سطح برگ اندازه-گیری شد.

وزن‌تر و خشک قسمت هوایی

پس از برداشت در مرحله رویشی، پنج بوته از هر کرت به صورت تصادفی انتخاب و از کف بریده و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند. وزن‌تر قسمت هوایی توسط ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری شد. وزن خشک قسمت هوایی نیز بعد از ۴۸ ساعت قرارگیری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آون مدل (Iran Shimaz Co,) و ثابت ماندن وزن، پس از وزن کردن مجدد، سنجیده شد.

اندازه‌گیری کلروفیل کل

برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل در بافت گیاهی به روش تخریبی، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاهی تهیه شد و سپس به قطعات ریز خرد گردید. نمونه‌ها در هاون چینی با اضافه نمودن ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی سائیده و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف گردید. هاون، کاغذ صافی و باقیمانده مواد گیاهی دوباره با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد تمیز و به حجم نهایی رسانده شد. بعد در محلول صاف شده میزان جذب نور کلروفیل a, b، کارتنوئید و کلروفیل کل به ترتیب در سه طول موج ۶۶۱/۱، ۶۴۴ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل با استفاده از فرمول‌های زیر برحسب میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید (آرنون ۱۹۴۹).

$$Chla = 11.24\, A_{661.6} - 2.04\, A_{644.8}$$
$$Chlb = 21.13\, A_{644.8} - 5.1\, A_{661.6}$$

$$\text{Carotenoids} = (1000A_{470} - 1.09\, Chla - 63.14\, Chlb)/214$$
$$\text{Total Cl} = 7.05A_{661.6} + 18.09A_{644.8}$$

اندازه‌گیری پلی فنل کل با معرف فولین سیوکالچو و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت و غلظت بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید (ملیک و سینگ ۱۹۸۰).

ظرفیت آنتی‌کسیدانی از طریق خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH[۳] تعیین شد. نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر تعیین شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از فرمول زیر محاسبه گردید (لین و تانگ ۲۰۰۷).

%DPPHsc=[(Acont-Asamp/Acont)*100
%DPPHsc=درصد بازدارندگی
Acont =میزان جذب DPPH
Asamp = میزان جذب نمونهDPPH

تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد صورت پذیرفت. نمودارها با نرم افزار Excel 2013 رسم گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر کودزیستی بر صفات رویشی شنبلیله در جدول (۲) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر بلوک (تکرار) بر روی هیچ کدام از صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبوده است.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر تیمار بر صفات مورد اندازه‌گیری شده نشان داد که بر صفات تعداد و سطح برگ و وزن تر و خشک شاخساره در سطح یک درصد معنی‌دار است.

[۲] Leaf Area Meter

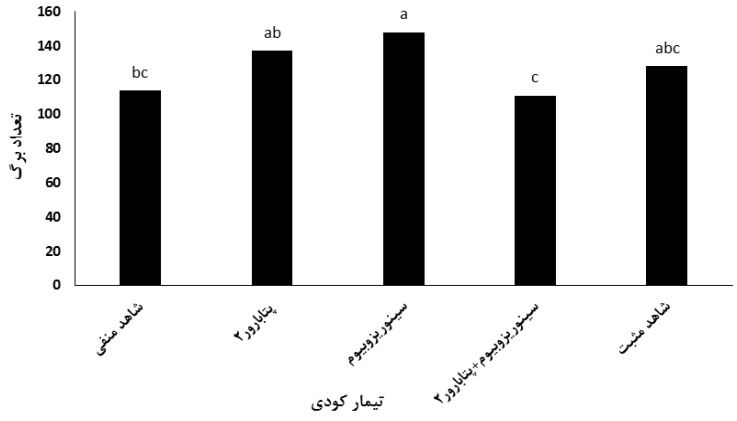
[۳] 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کود زیستی بر صفات رویشی شنبلیله

	میانگین مربعات				
منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد برگ	سطح برگ	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره
بلوک	۲	۸/٤٦٧ ns	۷۳۸/٦۰۰ ns	٤/٥۱۳ns	۰/٤۱٦ns
تیمار	٤	۷٤٦/۰٦۷**	٤۷۸٥۷/۰٦۷**	۱٤٤۷/۸٦٦**	٥/۹۸۳**
خطا	۸	۷۱/۷۱۷	۱۷٦۸/۰۱۷	٤۱/۰۰۷	۰/٦۸٦
ضریب تغییرات (٪)		٦/٦۳۰	٥/٤۳	۷/۱۳	۷/٦۲

** و * و ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ٥٪ و غیر معنی‌داری می باشد.

مقایسه میانگین داده ها (شکل ۱) نشان داد که بیشترین تعداد برگ (۱٤۸/۳) در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین تعداد برگ (۱۱۱) در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+ پتاباروb۲ مشاهده شد. تحقیقات نشان داده است که تلقیح گیاهان لگوم با باکتری‌های ریزوبیومی و فرایند تثبیت نیتروژن می‌تواند اثرات مثبتی بر رشد گیاه و در نهایت قابلیت دسترسی به عناصر غذایی و در نتیجه بهبود کیفیت تغذیه‌ای اجزای مختلف گیاه داشته‌باشد (رودلاس و همکاران ۱۹۹۹). به نظر می-رسد که سیگنال‌های شیمیایی در گیاهان تلقیح شده، رشد برگ را کنترل می‌نمایند. مطابق با نتیجه تحقیق حاضر، جندی (۲۰۱۳) بیشترین تعداد برگ در گیاه شنبلیله در گیاهان تلقیح شده با *ریزوبیوم* نسبت به تیمار شاهد مشاهده نمودند. افزایش تعداد برگ در اثر کاربرد باکتری *سینوریزوبیوم* به تنهایی در مقایسه با کاربرد ترکیبی آن را می توان به تثبیت نیتروژن و در نتیجه افزایش غلظت و زیست فراهمی این عنصر مهم و همچنین در اثر ترشحات خارجی این باکتری‌ها و افزایش زیست فراهمی سایر عناصر نسبت‌داد (گری و اسمیت ۲۰۰٥). افزایش رشد در اثر ساخت انواع ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه و همچنین ایجاد مقاومت در گیاهان منجر به افزایش رشد گیاه و به ویژه افزایش تعداد برگ می‌گردد (کلوپر و همکاران ۱۹۸۹).



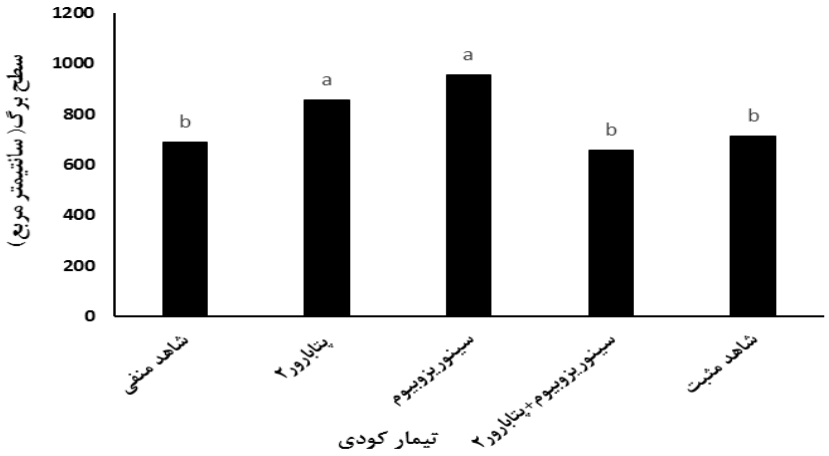
شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد برگ در شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)است.

مقایسه میانگین داده های به دست آمده نشان داد که بیشترین سطح برگ ($۹۵۵/۳cm^2$) متعلق به تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین سطح برگ ($۶۵۸/۷cm^2$) متعلق به تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+ پتابارو۲ بود (شکل ۲).

سطح برگ تعیین کننده‌ی ظرفیت فتوسنتزی گیاه است که تحت تاثیر غلظت و فراهمی عناصر غذایی، نوع ژنوتیپ و محیط است (صابری و همکاران ۱۳۹۳). افزایش سطح برگ، شاخصی از افزایش رشد رویشی گیاه محسوب می‌شود و توسعه آن در افزایش تولید و عملکرد نقش بسزایی دارد (نظارت و غلامی ۲۰۰۹). غلامی و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که توسعه کندتر سطح برگ باعث جذب کمتر نور شده و در نتیجه کاهش رشد محصول را به دنبال دارد. باکتری‌ها با تولید جیبرلین و اسید ایندول استیک در گیاه باعث افزایش طول و پهنای برگ و در نتیجه سطح برگ گیاه می‌شود. در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد به دلیل افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه، جذب آب و مواد غذایی افزایش می‌یابد و رشد و سطح برگ افزایش می‌یابد (هو و همکاران ۲۰۰۷).

سینوریزوبیوم با ایجاد گره در گیاه شنبلیله و تثبیت نیتروژن و افزایش زیست فراهمی آن و همچنین افزایش دسترسی به سایر عناصر مورد نیاز باعث افزایش رشد گیاه و سطح برگ می شود. برخی محققین علت افزایش سطح برگ گیاهان مختلف تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد را به توانایی این باکتری‌ها در تولید هورمون هایی نظیر اکسین نست داده اند (غلامی و همکاران ۲۰۰۹).



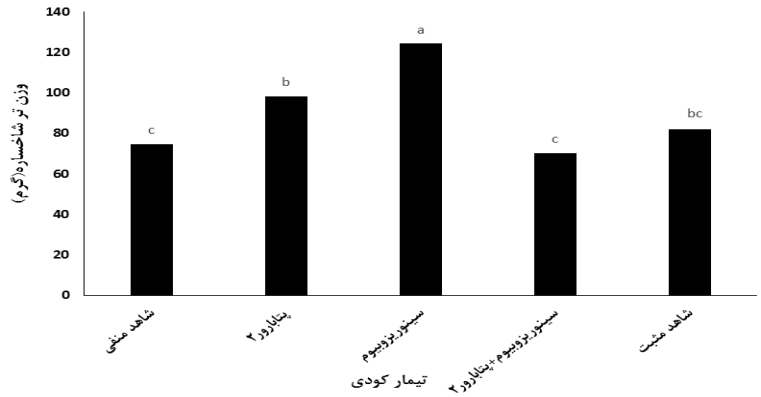
شکل ۲ – مقایسه میانگین سطح برگ شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان داد که بیشترین وزن‌تر شاخساره (۱۲٤/۲g) مربوط به تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین وزن تر شاخساره مربوط به تیمارهای کودی شاهد منفی و *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲ (به ترتیب ۷۰/۲۵g و ۷٤/٦۲g) می‌باشد.

وزن تر گیاه مهترین فاکتور رشد رویشی در عملکرد سبزی‌های خوراکی است که می توان گفت برآیند تعداد برگ، وزن هر برگ، تعداد ساقه، تعداد گره و ارتفاع گیاه می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده افزایش وزن تر گیاه به علت افزایش نیتروژن در ناحیه ریشه به دلیل

تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌ها می‌باشد. فعالیت باکتری‌ها در ناحیه ریشه باعث حلالیت سایر عناصر معدنی، سنتز ویتامین‌ها، آمینواسیدها و جیبرلین‌هاست که منجر به تحریک رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (اسپارنت ۱۹۹۰). ابوالحسنی (۱۳۸٦) اظهار داشت تلقیح گیاهان لگومینوز با جدایه‌های بومی *ریزوبیوم* مقاوم به شوری و خشکی در شرایط نامساعد محیطی، تاثیر مثبتی در رابطه همزیستی لگوم-ریزوبیوم دارد و در نتیجه افزایش تعداد گره‌های فعال، تثبیت نیتروژن و افزایش عملکرد گیاه را به دنبال دارد. زایدی و همکاران (۲۰۰۳) نیز افزایش در پارامترهای رشد و عملکرد نخود در اثر تلقیح با باکتری‌های ریزوبیومی را به اثرات تجمعی شامل افزایش ذخیره‌ای مواد غذایی مانند نیتروژن و فسفر در گیاه و تولید مواد محرک رشد به وسیله‌ی این میکروارگانیسم‌ها نسبت دادند. در مطالعه‌ای که توسط لرکی و اخگر (۱۳۹۳) انجام شد، استفاده از باکتری‌های *سینوریزوبیوم* به طور کلی بر روی اغلب صفات تاثیر معنی‌داری داشته و باعث افزایش عملکرد گیاه شنبلیله شده است. نتایج یک تحقیق در دو خاک با سابقه و بدون سابقه کشت یک لگوم نشان داد در خاک با سابقه کشت که دارای جمعیت ریزوبیوم بومی بوده، تلقیح تاثیری در مقدار محصول نداشته است، در خاک دوم که تعداد باکتری بومی بسیار کمتر از حد معمول بود، تلقیح سبب افزایش عملکرد محصول گردید و مصرف کود نیتروژنی تاثیری در مقدار محصول نداشت (ژیلیانوف و همکاران ۲۰۰۳).

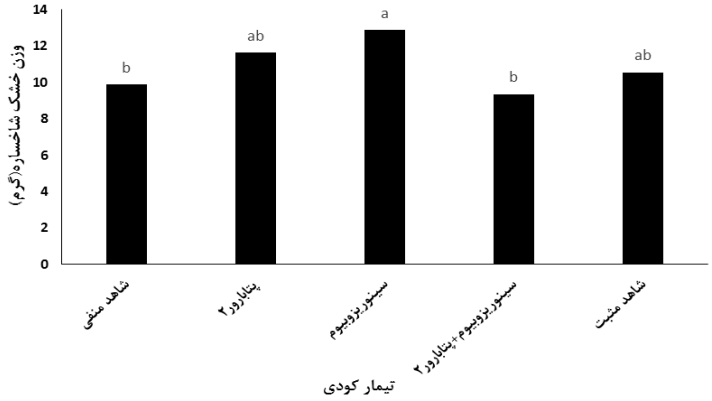


شکل ۳- مقایسه میانگین وزن تر شاخساره شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

مقایسه میانگین داده‌های به‌دست آمده (شکل ٤) نشان داد که بیشترین وزن خشک شاخساره (۱۲/۸۸g) مربوط به تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین وزن خشک شاخساره (۹/۳٦۱g) مربوط به تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲ می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل، می‌توان افزایش وزن خشک را به افزایش سطح برگ نسبت داد، چون افزایش سطح برگ باعث جذب نور بیشتر شده، و موجب افزایش تولید مواد فتوسنتزی و در نتیجه تجمع ماده خشک در گیاه می‌شود. در پژوهشی که توسط صابری و همکاران (۱۳۹۳) بر تلفیق کود زیستی و شیمیایی بر روی لوبیا انجام شد، تیمارهایی که از شاخص سطح برگ بیشتری برخوردار بودند، وزن خشک بالاتری هم داشته باشند. نتایج آن‌ها نشان داد که تیمار *ریزوبیوم* به دلیل شاخص سطح برگ بیشتر و به تبع آن جذب تابش و فتوسنتز بیشتر و نهایتا با توسعه بیشتر اندام‌های هوایی و زیرزمینی، جذب نور و آب و عناصر غذایی از تجمع ماده خشک بیشتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند.

فاضلی و بشارتی (۱۳۹۱) با مطالعه اثر تلقیح شش سویه متفاوت از باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* با دو رقم گیاه یونجه گزارش کردند که بیشترین وزن خشک گیاه مربوط به هر دو رقم تلقیح شده با این باکتری بود و گیاهان تلقیح شده با این سویه‌ها به مراتب وزن خشک بیشتری را نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری داشتند. نتایج آزمایشگاهی عبدلگانی و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که تلقیح بذور شنبلیله با باکتری‌های *سینوریزوبیوم* سازگار و موثر می‌تواند منجر به بهبود عملکرد گردد. نبی زاده و همکاران (۱۳۷۵) گزارش کردند که همزیستی جدایه‌های *سینوریزوبیوم* بومی و خارجی با یونجه یک ساله، وزن خشک ساقه و ریشه را افزایش داد. آنها همچنین نشان دادند اثر جدایه‌های *سینوریزوبیوم* بر تعداد گره در ارقام مختلف یونجه یک ساله معنی‌دار بود. نتایج آزمایشات عیوضی و همکاران (۱۳۹۰) در گیاه شبدر و نخود نیز نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین وزن خشک اندام هوایی و میزان نیتروژن تثبیت شده وجود داشت. افزایش در وزن خشک گیاه ممکن است ناشی از تاثیر باکتری‌ها در فراهم کردن نیتروژن بیشتر برای گیاه و همچنین آزاد سازی برخی از ترکیبات توسط این باکتری‌ها باشد (داکورا ۲۰۰۳).



شکل ۴- مقایسه میانگین وزن خشک شاخساره شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی، حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

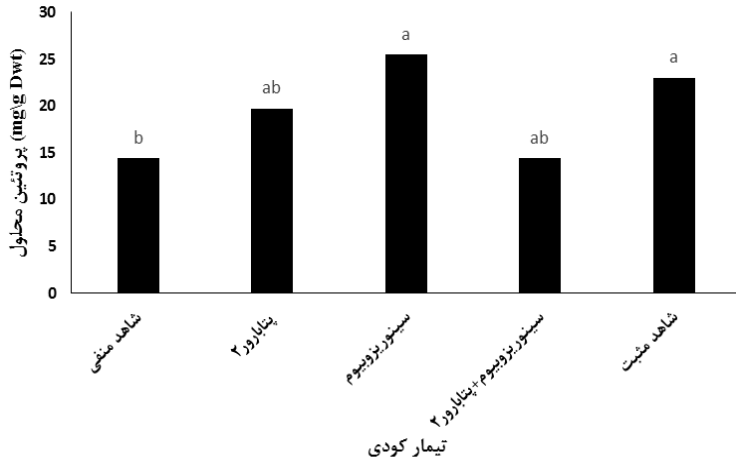
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر کود زیستی بر صفات فیزیولوژیکی شنبلیله

	میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	پروتئین محلول	آنتی اکسیدان	فنل کل	کلروفیلa	کلروفیلb	کارتنوئید	کلروفیل کل
بلوک	۲	۷/۸۷۲^{ns}	۰/۱۲۲^{ns}	٦٣٦/٢٣^{ns}	۰/۷۵۸^{ns}	۰/۱۰۱^{ns}	۰/۰۱۸^{ns}	۰/۲٤^{ns}
تیمار	٤	٥١/٤٦٣*	٥٤/٣٦**	٣١٧٤/٠١*	۸/۱۹۹**	۱/٥٥٣**	۰/۱۳۲^{ns}	۱۸/۱٥**
خطا	۸	۱۰/۷۸	۱/۰۳٦	٦٧٨/٩	۰/۳٤	۰/۱۷٥	۰/۱۷٥	۰/۲۸٥
ضریب تغییرات (٪)		۱٥/۹۰	۱/٥۷۸	۹/۸٤	٤/۱۸٦	۷/٤۸	۸/۹۳	۲/۷

** و * و ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ٥٪ و غیر معنی‌داری می باشد.

پروتئین محلول

تجزیه واریانس داده‌ها(جدول ۳) بیانگر اثر معنی دار تیمارهای مختلف کودی اعمال شده در سطح احتمال ۵ ٪ بر میزان پرو تئین محلول برگ بود مقایسه میانگین (شکل ۵) نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین (۲۵/۵۰٦mg/g) در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین مقدار پروتئین (۱٤/٤۳۸ mg/g) در تیمار کودی شاهد منفی مشاهده گردید. فاضلی و بشارتی (۱۳۹۱) با مطالعه جدایه‌های باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* بر روی یونجه گزارش دادند که با تلقیح باکتری‌های *سینوریزوبیوم ملیلوتی*، غلظت نیتروژن و پروتئین در اندام هوایی گیاه یونجه افزایش یافت. نیشانت و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه کودهای زیستی و آلی بر روی گیاه شنبلیله نشان دادند که بیشترین مقدار پروتئین در تیمارهای کود زیستی *(آزوسپریلیوم)* به‌دست آمد، چنین نتیجه‌ای شاید مربوط به تلقیح با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و استفاده بیشتر از نیتروژن اتمسفری باشد و در نتیجه مقدار پروتئین گیاه شنبلیله افزایش می‌یابد. بیروا و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه بر روی گیاه شنبلیله نشان دادند که تلقیح باکتری‌های ریزوبیوم و حل کننده فسفر منجر به افزایش نیتروژن و فسفر قابل دسترس شده و سنتز پروتئین، کربوهیدرات‌ها و نشاسته افزایش پیدا کرد و در نتیجه عملکرد گیاه شنبلیه افزایش یافت. این نتایج همچنین توسط بابو و شارما (۱۹۹۵) گزارش شده است. از آنجایی که در تیمار *ریزوبیوم* مقدار عملکرد، وزن تر و خشک و رشد بالاتری نسبت به سایر تیمارها مشاهده گردید، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش مقدار پروتئین در تیمار *ریزوبیوم* به علت وجود نیتروژن تثبیت یافته توسط ریزوبیوم باشد که به نوبه خود بر روی آمینواسید و مقدار پروتئین تاثیر گذاشته است.



شکل ۵- مقایسه میانگین پروتئین محلول شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

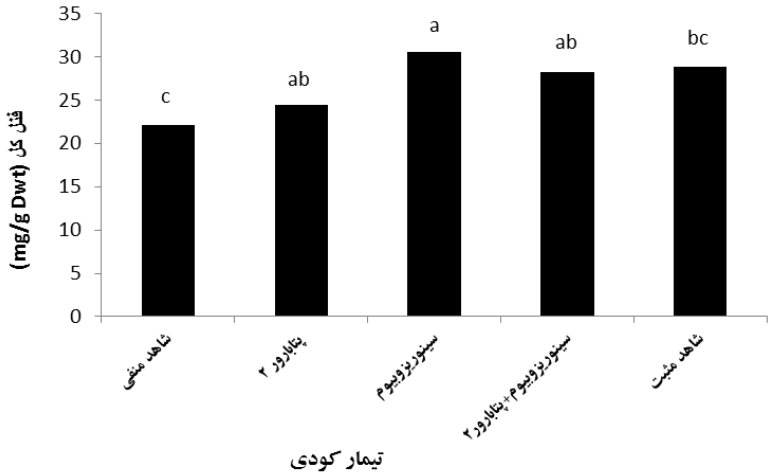
حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

فنل کل

بر اساس تجزیه واریانس داده ها (جدول ۳) اثر تیمارهای مختلف کودی اعمال شده بر مقدار فنل در سطح احتمال ۵ ٪ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین (شکل ۷) داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پلی فنل کل (۲۹۹/۱۵ mg/g) در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین مقدارپلی فنل کل (۲۲۲/۱۸ mg/g) در تیمار کودی شاهد منفی مشاهده گردید.

افزایش مقدار فنل‌ها در تیمار ریزوبیوم می‌تواند به دلیل افزایش تعداد گره‌های تثبیت کننده نیتروژن و

تغییرات در بیان ژن‌های تولید کننده این ترکیبات فنلی باشد. چون گزارش شده است فلاونوئیدها در گیاهان به ویژه لگوم‌ها به عنوان مولکول‌های سیگنال عمل می‌کنند که شامل القای بیان ژن‌های گره‌زایی در تیمارهای *ریزوبیوم* عمل می‌کنند (ون ۱۹۸۹ و کوپر و رائو ۱۹۹۲) همچنین به فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی نقش آنتی اکسیدانی نیز نسبت داده شده است، که عمدتا به علت توانایی آن‌ها در مهار پراکسیدازهای لیپیدی می‌باشد (لارسون ۱۹۸۸).



شکل ۷- مقایسه میانگین پلی فنل کل شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

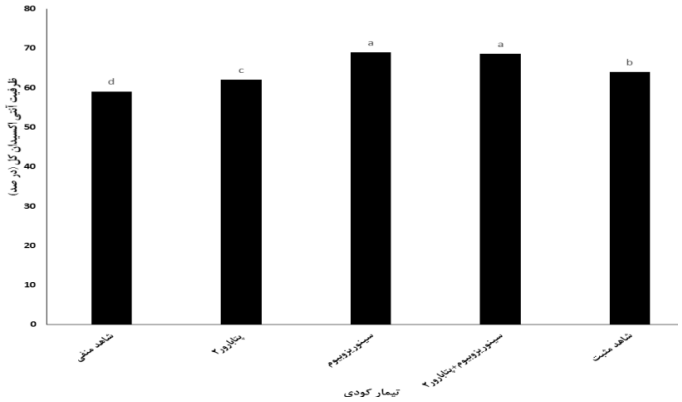
ظرفیت آنتی اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر مقدار آنتی اکسیدان در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار می‌باشد. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ٦)، بیشترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی (٦٨/٩٧ ٪) گیاه شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین مقدار آنتی‌اکسیدان کل (٥٩/٠٥ ٪) در تیمار شاهد منفی مشاهده گردید.

گیاه با افزایش مقدار ROS[1] از سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی به طور وسیع استفاده می‌کند که می‌تواند آسیب اکسیداتیو را توسط مهار ROS کاهش دهد. یکی از مهمترین سیستم‌های دفاعی در مقابل ROS درگیر شدن مستقیم با اشکال فعال اکسیژن، پایین نگه داشتن سطح سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پروکسیداز (APX) و گلوتاتیون پروکسیداز(GPX) می‌باشد(چودری و همکاران ۲۰۱۳ و حسن الزمان و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به حساسیت فرایند تثبیت نیتروژن به آسیب‌های اکسیداتیو در گره لگوم‌هایی مانند شنبلیله، یک آرایش وسیع کامل از دفاع-های آنتی‌اکسیدانی به منظور از بین بردن یا جلوگیری از شکل گیری ROS تکامل یافته است. آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گره شامل SOD، کاتالاز و ترکیبات چرخه آسکوربات-گلوتاتیون (ASC-GSH) و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی شامل ASC، تری‌پپتیدهای تیول و توکوفرول‌ها می‌باشد (بکانا و همکاران ۱۹۹۹).

[1] Reactive Oxygen Species

بیات و همکاران (۲۰۱٤) در مطالعه اثر تلقیح ریزوبیوم بر روی گیاه شبدر نشان دادند که گره‌های صورتی رنگ بر روی ریشه‌های گیاه تشکیل می‌شوند که وزن تر و خشک ریشه گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش می-یابد. آن‌ها نتیجه گرفتند در تلقیح گیاهان با ریزوبیوم، وزن تر و خشک ریشه در اثر افزایش فعالیت آنتی-اکسیدانی تا ۸۵ درصد افزایش می‌یابد. طبق نتایج حاصل از آزمایش حاضر، گیاهان شنبلیله تلقیح شده با سینوریزوبیوم و ترکیب آن با پتابارور ۲، فعالیت انتی اکسیدانی بالایی را نشان دادند. فلانوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی به طور فراوانی در گره‌ها وجود دارند که علیرغم اینکه نقش واضحی به عنوان مولکول‌های سیگنال در ابتدای تشکیل گره دارند، می‌توانند مانع از پراکسیداسیون لیپیدی توسط جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های پیروکسیل در غشای گره می‌شوند (موران و همکاران ۱۹۹۷). محتوای فنلی برگ نشان دهنده توانمندی گیاه در مهار رادیکال آزاد است که می‌تواند به حفظ رشد طبیعی در مراحل مختلف رشد، و جلوگیری از تولید مکرر رادیکال های آزاد یا از القای اثرات بد پیری کمک کند (دیمیتریوس ۲۰۰٦).



شکل ۶- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

کلروفیل a و b و کارتنوئید

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) تیمارهای کودی اعمال شده بر کلروفیل a در سطح احتمال ۱ ٪ تاثیر معنی‌داری داشتند. مقایسه میانگین داده های به‌دست‌آمده نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a گیاه شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲ و *سینوریزوبیوم* (به ترتیب ۱۵/۹٦۸mg/g و ۱۵/٤٤۵mg/g) و کمترین مقدار کلروفیل a (۱۲/٤۸۳mg/g) در تیمار شاهد منفی مشاهده گردید. از سوی دیگر با توجه به معنی‌دار بودن اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ ٪، مقایسه میانگین داده‌ها در شکل ۹، بیشترین میزان کلروفیل b گیاه شنبلیله را در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲ و *سینوریزوبیوم* (به ترتیب ٦/٤۳٦ و ۵/۸۷۵ mg/g) و کمترین مقدار کلروفیل b (٤/٤٦٤ mg/g) را در تیمار شاهد منفی نشان می دهد. بیشترین مقدار کلروفیل کل گیاه شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲ (۲۲/٦٦mg/g) و کمترین مقدار کلروفیل کل (۱۵/۸۰mg/g) در تیمار شاهد منفی مشاهده گردید (جدول ٤). از سوی دیگر، بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر میزان کاروتنوئید تاثیر معنی‌داری نداشت.

جدول ۴- مقایسه میانگین کلروفیل a ، b و کل (میلی گرم در گرم وزن خشک) شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
شاهد منفی	۱۲/٤۸۳b	٤/٤٦c	۱٥/۸۰c
پتابارور ۲	۱۳/۲b	٥/٦ab	۱۷/٤٥b
سینوریزوبیوم	۱٥/٤٤٥a	٥/۸۸ab	۲۰/۱۲ ab
سینوریزوبیوم+پتابارور ۲	۱٥/۹٦۸a	٦/٤٤a	۲۲/٦٦ a
شاهد مثبت	۱۲/٦b	٥/٥b	۲۰/۹٤ab

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)است.

حدود ۲ تا ٥ درصد وزن خشک گیاه را نیتروژن تشکیل می‌دهد و از آنجا که نیتروژن مستقیما در ساختار مولکول کلروفیل شرکت می‌کند، ارتباط مثبتی بین مقدار نیتروژن برگ و مقدار کلروفیل وجود دارد (کاسمن و همکاران ۱۹۹٦).

تاثیر کود زیستی بر روی برگ ممکن است وابسته به کارایی در تامین بیولوژیکی نیتروژن تثبیت شده، فسفر محلول و تولید هورمون‌های گیاهی باشد که این عوامل می‌توانند جذب عناصر را تحریک و فرایند فتوسنتز را در گیاه افزایش داده و در نتیجه رشد گیاه را ارتقا دهند (هودی ۱۹۹۹). کوربانلی و همکاران (۲۰۰٦) گزارش نمودند که یک همبستگی مثبت بین نیتروژن و مقدارکلروفیل برگ‌ها وجود دارد، که عمدتا وابسته به حضور نیتروژن در ساختار ملکول‌های کلروفیل می-باشد. علاوه بر این چاندراسکار و همکاران (۲۰۰٥) افزایش میزان کلروفیل برگ‌ها را وابسته به تثبیت نیتروژن که باعث افزایش مقدار نیتروژن در بافت‌های رویشی می‌شود، نسبت دادند. مزایای تلقیح گیاه با ریزوباکتری‌های تحریک کنده رشد گیاه شامل افزایش شاخص‌های مختلفی مانند سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، تولید ماده خشک، سطح برگ، کنترل بیماری‌ها، حجم کلروفیل، مقاومت به خشکی، وزن ساقه و فعالیت‌های میکروبی می‌شود (سلوسی و همکاران ۲۰۰٤).

افزایش غلظت کلروفیل برگ در تیمارهای مایه‌زنی شده با *سینوریزوبیوم* نسبت به تیمارهای شاهد در مطالعات باشان و همکاران (۲۰۰٤)، ماتوس و شردور (۱۹۸۹) و یامان و جینسوی (۱۹۹٦) گزارش شده است. بخشنده و همکاران (۲۰۱٤) نیز بیشترین میزان کلروفیل a و b را در گیاه ریحان تحت تاثیر تیمارهای کودی (کودشیمیایی نیتروژن و کود زیستی ازتوباکتر و سودوموناس) گزارش کرده‌اند. میزان نسبی کلروفیل از ابتدای رشد تا مراحل شروع تشکیل دانه افزایش یافته و سپس از این مرحله به تدریج مقدار آن کاهش می‌یابد. محققین مرحله رویشی که برگ‌های گیاه بیشترین میزان کلروفیل را دارند، مرحله بلوغ فتوسنتزی نامیده‌اند و عقیده بر این است که در این زمان گیاه بیشترین سرعت فتوسنتز را دارد.

کومار و کومار (۲۰۰۸) گزارش کردند که با افزایش مصرف سولفات پتاسیم افزایش محتوی نسبی کلروفیل دیده شده است. این محققان اعلام داشتند بالا رفتن فعالیت‌های فتوسنتزی ناشی از افزایش محتوی نسبی کلروفیل در برگ‌ها به واسطه نقش پتاسیم در سنتز پیش ماده رنگدانه‌های کلروفیل می‌تواند باشد و افزایش محتوی نسبی کلروفیل در برگ‌ها، انتقال انرژی تابشی را به داخل انرژی شیمیایی اولیه در شکل ATP و NADPH در کلروپلاست بهبود می‌بخشد. پتاسیم بر روی فرآیندهای فتوسنتز در بسیاری از سطوح از جمله سنتز ATP، فعال کردن آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز، جذب دی‌اکسیدکربن و تعادل در بارهای الکتریکی مورد

نیاز فتوفسفوریلاسیون[۵] در کلروپلاست‌ها و به عنوان یون با بار مخالف در جریان H^+ القا شده توسط نور در میان غشای تیلاکوئید عمل می‌کند (مارشنر و همکاران ۱۹۹۶) مطالعات انجام شده بر روی خیار، پنبه و یونجه نشان داد که عرضه کافی عنصر غذایی پتاسیم حجم کلروفیل را افزایش می‌دهد (ژائو و همکاران ۲۰۰۱). هرچند پتاسیم دارای نقش‌های مهم دیگری در فرایندهای ضروری گیاه مانند فتوستنز، تنفس، تنظیم اسمزی، رشد و عملکرد گیاه است، پایین بودن حجم کلروفیل در لگوم‌ها وابسته به کمبود پتاسیم می‌باشد (سینگ و کاتاریا ۲۰۱۲) کارتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و آسکوربیک اسید با جاروب کردن رادیکال‌های آزاد موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شود (چادوری و همکاران ۲۰۱۳). کارتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا نمایند. کارتنوئیدها نقش اساسی در حفاظت نوری کلروفیل‌ها علیه آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون نوری به وسیله کاهش گونه‌های اکسیژن فعال دارند (بهارا و میشرا ۲۰۰۲).

نتیجه گیری

این آزمایش نشان داد هر چند جدایه‌های بومی ریزوبیوم در خاک مزرعه حضور دارند اما تلقیح با باکتری *S.meliloti .R5* که از گره‌های کارآمد و موثر شنبلیله جداسازی شده بود، باعث بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه شنبلیله در مقایسه با نمونه شاهد منفی و همچنین شاهد مثبت شد. تلقیح بذر شنبلیله با کود زیستی *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ منجر به افزایش اکثر صفات رویشی و در نتیجه عملکرد شاخساره شد. کاربرد منفرد این کودهای زیستی نتایج بهتری را نسبت به کاربرد تلفیقی آن‌ها داشت. همزیستی *سینوریزوبیوم* با گیاه شنبلیله باعث افزایش داده‌های فیزیولوژیکی شده بخصوص در مقدار فنل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تاثیر بسزایی داشته باشد. به طور کلی کاربرد *سینوریزوبیوم ملیلوتی* نتیجه بهتر و کارآمدتر را در افزایش عملکرد، صفات کیفی و رشد گیاه شنبلیه نسبت به کود پتابارور۲ و تلفیق *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ را داشته است. در این پژوهش بسیاری از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در حضور کود پتابارو۲ و *سینوریزوبیوم* اثر کاهنده داشتند به نظر بین باکتری‌های سودوموناس موجود در کود پتابارور۲ و باکتری *سینوریزوبیوم* رابطه همزیستی وجود ندارد. با توجه به اینکه کارایی کودهای زیستی فسفر حاوی قارچ‌های مایکوریزا که در جذب فسفر اثبات شده است کاربرد تلفیقی کودهای زیستی پتابارور۲ و *سینوریزوبیوم* با کود زیستی فسفر پیشنهاد می‌شود.

منابع مورد استفاده

Abdelgani ME, Elsheikh EAE and Mukhtar NO. 1999. The effect of Rhizobium inoculation and chemical fertilization on seed quality of fenugreek. Food Chemistry, 64(3): 289-293.

Abolhasani M, Tajabadipor A, Lakzian A and Mohammadi H. 2009. Study compatible solute accumulation in alfalfa inoculated with bacteria strains resistant to drought water stress conditions in a greenhouse. Proceedings of the 11th Congress of Soil Science Iran, Gorgan. (In Persian).

Amooaghayi R and Mostajeran A. 2008. Plant and bacteria symbiosis systems. Isfahan university publication, 237 pages. (In Persian).

[۵] Photophosphorylation

Aron D. 1949. Copper enzymes isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris.* Plant Physiology, 24: 1-15.

Baboo R and Sharma R. 1995. Nutrient uptake and yield of fenugreek *(Trigonella foenum-graecum L.)* as affected by nitrogen, phosphorus and cutting management. Vegetable Science, 22(2): 77-88.

Bairva M, Meena SS and Mehta RS. 2012. Effect of bio-fertilizers and plant growth regulators on growth and yield of fenugreek *(Trigonella foenum-graecum L.).* International Journal of Seed Spices, 2(1): 28-33.

Bakhshande Larimi S, Shakiba MR, Dabbagh Mohamadi Nasab A and Moghaddam Vahed M. 2014. Changes in nitrogen and chlorophyll density and leaf area of sweet basil *(Ocimum basilicum.* L*)* affected by biofertilizer and nitrogen application. Biosciense IJB, 5: 256-265.

Bashan Y, Holguin G and de-Bashan LE. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology, 50: 521-577.

Bayat L, Askari M, Amini F and Zahedi m. 2014. Effects of Rhizobium inoculation on *Trifolium resupinatum* antioxidant system under sulfur dioxide pollution. Biological Journal of Microorganism. 2nd Year, 2: 37-50.

Becanaa M, Daltonb DA, Morana JF, IturbeOrmaetxea I, Matamorosa MA and Rubio M C. 2000. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. Physiologia Plantarum, 109: 372-381.

Behera RK and Mishra PC. 2002. High Irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. Journal of Plant Physiology, 159: 967-973.

Cassman KG, Gines GC, Dizon MA, Samson MI, Alcantara JM. 1996. Nitrogen-use efficiency in tropical lowland rice systems: contributions from indigenous and applied nitrogen. Field Crops Research, 47: 1-12

Chandrasekar BR, Ambrose G and Jayabalan N. 2005. Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb.) Link. Journal of Agricultural Technology, 1: 223-234.

Choudhury S, Panda P, Sahoo L, Panda SK. 2013. Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. Plant Signal Behaviour, 8: 23681-6.

Cooper JE and Rao JR. 1992. Localized changes in flavonoid biosynthesis in roots of Lotus pedunculatus after infection by *Rhizobium loti*. Plant Physiology, 100: 444-450.

Dakora FD. 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. New Phytologist, 158(1): 39-49.

Dimitrios B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science & Technology, 17: 505-512.

Djilianov D, Prinsen E, Oden S, van Onckelen H and Muller J. 2003: Nodulation under salt stress of alfalfa genotypes obtained after in vitro selection for osmotic tolerance. Plant Science, 165: 887–894.

Ebrahimi A, Moaveni P and Aliabadi Farahani H. 2010. Effects of planting dates and compost on mucilage variations in borage (*Borago officinalis L*.) under different chemical fertilization systems. International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research, 1(5): 58-61.

Eivazi AR, Fajri A, Rezazad M, Soleimapour M and Rezai M. 2012. Evaluation of potential of biological nitrogen fixation of Rhizobium strains in legume crops in West Azerbaijan province. Iranian Journal of Crop Sciences, 13 (4): 627-641. (In Persian).

Fazaeli A and Besharati H. 2012. Effect of salinity on some growth indices and total protein content of alfalfa genotypes inoculated with *Sinorhizobium meliloti* strains under greenhouse conditions. Journal Science and Technology Greenhouse Culture, 3(9): 25- 38. (In Persian).

Gendy ASH. 2013. Growth, yield and chemicals constituents of fenugreek as influenced by Rhizobium inoculation and molybdenum foliar spray. Middle East Journal of Agriculture Research, 2(3): 84-92.

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

Gray EJ and Smith DL. 2005. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant bacterium signaling processes. Soil Biology and Biochemistry, 37: 395-412.

Hasanuzzaman M, Hossain M, da Silva JT and Fujita M. 2012. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: Venkateswarlu B, Shanker AK, Shanker C Maheswari M (eds) Crop stress and its management: perspectives and strategies. Springer, Netherlands, pp 261–315.

Hewedy AM. 1999. Influence of single and multibacterial fertilizer on the growth and fruit yield of tomato. Egyptation Journal of Applied Sciences, 14: 508–23

Hu Y, Burucs Z, Tucher S and Schmidhalter U. 2007. Short-term effect of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. Environmental and Experimental Botany, 60: 268-725.

Kloepper W, Lifshitz R and Zablotwicz RM. 1989. Free-living bacterial inoculate for enhancing crop productivity. Trends Biotechnology, 7: 39-43

Kumar AR and Kumar M. 2008. Studies on the efficacy of sulphate of potash on physiological, yield and quality parameters of banana cv. Robusta' (Cavendish- AAA). Eurasian Asia Journal of Biological Science, 2: 102-109

Larson RA. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochemistry, 27: 969-978.

Lin JY and Tang CY. 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. Food Chemistry, 101 (1): 140-147

Lorki S and Akhgar A. 2014. The effect of *Sinorhizobium sp* on yield, nodulusation and nitrogen fixation in fuengreek. Soil biology, 2(2): 137-148. (In Persian).

Lucy M, Reed E and Glick BR. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Antonie Van Leeuwenhoek, 86: 1-25.

Malik CP and Singh MB. 1980. Plant enzymology and histo-enzymology, 4th ed. Kalyani Publishers, New Delhi.

Marschner H. 1995. The Minerai Nutrition of Higher Plants. London: Academic Press.

Marschner H, Kirkby E and Cakmak I. 1996. Effect of Mineral Nutritional Status on Shoot-Root Partitioning of Photoassimilates and Cycling of Mineral Nutrients. Journal of Experimental Botany, 47: 1255-1263.

Matos I and Schroder EC. 1989. Strain selection for pigeon pea rhizobium under greenhouse conditions. Plant and Soil, 116: 19-22.

Moran JF, Klucas RV, Grayer RJ, Abian J and Becana M. 1997. Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. Free Radical Biology & Medicine, 22: 861-870.

Nezarat S and M Gholami. 2009. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving grain germination, grainling growth and yield of maize. Pakistan Journal of Biological Sciences, 12(1): 26-32.

Nishant M, Singh CP and Mishra US. *2011*. Effect of Bio-fertilizers on Bio-nutrients, Nitrogen, Total Protein, Extractable Lipid and Mineral Contents of Cultivated Variety of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* Linn.). Journal of Phytology, 3(8): 15-17

Qurbanly M, Hashemyfar S, Fallah A. 2006. The interaction of irrigation and nitrogen on some morphological and physiological traits of rice plants (*Oryza sativa* L.). Journal of Agricultural Science, 12: 415-428.

Rodelas B, González–López J, Martínez-Toledo MV, Pozo C and Salmerón V. 1999. Influence of Rhizobium/Azotobacter and Rhizobium/Azospirillum combined inoculation on mineral composition of faba bean *(Vicia faba L.)*. Biology and Fertility of Soils, 29(2): 165-169.

Saberi H, Mosenabadi Gh, Majidian M and Ehteshami SM. 2015. Integrated application of biological and chemical fertilizers on bean (*Phaseolus vulgaris*) under Rasht climate conditions. Iranian Journal of Pulses Research, 6(1): 21-31 (In Persian).

Saha JK, Adhikari T and Mandal B. 1999. Effect of lime and organic matter on distribution of zinc, copper, iron and manganese in acid soils. Commun. Soil Sci. Plant Anal, 30: 1819-1829.

Saleh Rastin N. 2001.Biological fertilizers and their role in sustainable agriculture. Collection of Researches on the Necessity of Industrial Production of Bio-fertilizers: 1-54. (In Persian).

Selosse MA, Baudoin E, Vandenkoornhyse P. 2004. Symbiotic microorganism, a key for ecological success and protection of plant. Comptes Rendus Biologies, 327: 639-648

Sharma SK. 2000. Response of nitrogen and spacing on fenugreek seed production. Horticultural Journal, 13 (2): 39-42.

Singh N and Kataria N. 2012. Role of Potassium Fertilizer on Nitrogen Fixation in Chickpea (*Cicer arietinum L.*) under Quantified Water Stress. Journal of Agricultural Techno logy, 8: 377-392.

Van Loon LC. 2007. Plant response to plant growth-promoting rhizobacteria. European Journal of Plant Pathology, 119: 243-254.

Van Sumere CF. 1989. Phenols and phenolic acids. In: Harborne, J.B., ed. Methods in plant biochemistry. London: Academic Press, Vol. 1: 29-73.

Vessey JK. 2003. Plant growth promoting Rhizobacteria as bio-fertilizer. Plant and Soil, 255: 571-586.

Yaman M and Cinsoy AS. 1996. Determination of the most effective Rhizobium strain *(Rhizobium japonicum* L.) in soybean. Journal of Aegean Agriculture Research Institute, 6: 84-96.

Zaidi A, Khan MS and Amli M. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganism on yield and nutrient uptake of chickpea *(Cicer arietinum L.).* European Journal of Agronomy, 19(1):15-21.

Zhao D, Oosterhuis D and Bednarz C. 2001. Influence of Potassium Deficiency on Photosynthesis, Chlorophyll Content, and Chloroplast Ultrastructure of Cotton Plants. Photosynthetica, 39: 103-109.