



## The effect of co-inoculation of bradyrhizobium and mycorrhizal species on physiological traits and grain yield of soybean (*Glycine max* L.) under drought stress

Mohammad Ali Zirak- Qoturbulagh<sup>1</sup>, Shahram Mehri<sup>2\*</sup>,  
Hossein Soleimanzadeh<sup>3</sup>, Mohammad Hossein Ansari<sup>4</sup>

<sup>1</sup> PhD student in Agrotechnology, Department of Agriculture and Plant Breeding, Parsabad Moghan Branch, Islamic Azad University, Parsabad, Iran, Email: zirakgoturbulagh@gmail.com

<sup>2</sup> Department of Agriculture, ParsAbad Moghan Branch, Islamic Azad University, ParsAbad Moghan, Iran, Email: shahrammehri@iauparsabad.ac.ir

<sup>3</sup> Department of Agriculture, ParsAbad Moghan Branch, Islamic Azad University, ParsAbad Moghan, Iran, Email: hosseinsoleimanzadeh@yahoo.com

<sup>4</sup> Department of Agriculture, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran. Email: mansari@iaurasht.ac.ir

Article type:	Abstract
Research article	Drought is becoming a major threat to crop production in the world. Legumes are sensitive to drought stress and its negative effects can be seen in yield, protein and seed oil. For this purpose, a two-year field study (2020-2021) was conducted in the form of split plots with three replications in Moghan plain, Ardabil. The experimental factors included drought stress at three levels (60, 100 and 140 mm of evaporation from the class A pan) as the main factor and the secondary factor including the combined inoculation of soybean symbiotic bacteria and mycorrhizal fungi species at eight levels ( <i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Funneliformis mosseae</i> , <i>Rhizophagus irregularis</i> , <i>Glomus fasciculatum</i> , <i>B. japonicum</i> + <i>F. mosseae</i> , <i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i> , and <i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i> along with a control treatment). The results showed that increasing the severity of drought stress in both years decreased plant dry weight, number of pods, number of seeds per plant, biological yield and seed and oil yield in all treatments, but this decrease in some treatments, especially in co-inoculation treatments of <i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i> and <i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i> was less. In all treatments the concentration of chlorophyll <i>a</i> , proline, malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activity increased under drought stress (100 and 140 mm) in comparison with normal irrigation conditions (160), it was observed. Of course, the concentration of iron (Fe) and phosphorus (P) in the seed wasn't affected by the interaction of drought stress and microorganisms, and the highest amount of P in the seed was observed at the level of 140mm. Among the treatments, the co-inoculation treatments of <i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i> and <i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i> had a greater effect on improving soybean tolerance to drought than other treatments. Based on the obtained results, it is possible to suggest the inoculation of soybean seeds with <i>B. japonicum</i> bacteria and <i>R. irregularis</i> mycorrhizal species to improve the tolerance of the plant against drought stress and increase the yield of seeds and oil.
<b>Article history</b> Received: 05.03.2023 Revised: 05.06.2023 Accepted: 17.06.2023 Published: 21.06.2024	
<b>Keywords</b> Drought stress Oil and seed yield Mycorrhiza Rhizobium Soybean	

**Cite this article as:** Zirak-Qoturbulagh, M.A., Mehri, Sh., Soleimanzadeh, H., Ansari, M.H. (2023). The effect of co-inoculation of bradyrhizobium and mycorrhizal species on physiological traits and grain yield of soybean (*Glycine max* L.) under drought stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 19(2): 65-86.



## اثر تلقیح دوگانه برادی ریزوبیوم و گونه‌های میکوریزا بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد دانه سویا (*Glycine max L.*) تحت تنش خشکی

محمدعلی زیرک قوتوربلاغ<sup>۱</sup>، شهرام مهری<sup>۲\*</sup>، حسین سلیمان‌زاده<sup>۳</sup>، محمدحسین انصاری<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری آگروتکنولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد پارس‌آباد مغان، دانشگاه آزاد اسلامی، پارس‌آباد، ایران،

رایانامه: zirakgoturblagh@gmail.com

<sup>۲</sup> گروه زراعت، واحد پارس‌آباد مغان، دانشگاه آزاد اسلامی، پارس‌آباد، ایران، رایانامه: shahrammehri@iauparsabad.ac.ir

<sup>۳</sup> گروه زراعت، واحد پارس‌آباد مغان، دانشگاه آزاد اسلامی، پارس‌آباد، ایران، رایانامه: hosseinsoleimanzadeh@yahoo.com

<sup>۴</sup> گروه زراعت، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، رایانامه: mansari@iaurasht.ac.ir

### چکیده

### نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

خشکسالی در حال تبدیل شدن به یک تهدید بزرگ برای تولید محصولات زراعی در جهان است. حبوبات به تنش خشکی حساس بوده و آثار منفی آن در عملکرد، پروتئین و روغن دانه نمایان می‌شود. به همین منظور مطالعه مزرعه‌ای دوساله (۱۴۰۰-۱۳۹۹)، به صورت کرت‌های خرد شده با سه تکرار در دشت مغان، اردبیل، انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح (۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A) به عنوان عامل اصلی و عامل فرعی شامل تلقیح تلفیقی باکتری همزیست سویا و گونه‌های قارچ میکوریزا در هشت سطح (*Funneliformis mosseae Bradyrhizobium japonicum*) *B. japonicum + B. japonicum + F. mosseae*، *Glomus fasciculatum*، *Rhizophagus irregularis* و *R. irregularis + G. fasciculatum + B. japonicum* به همراه یک شاهد، می‌باشد. نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش خشکی در هر دو سال وزن خشک بوته، تعداد غلاف، تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه و روغن را در همه تیمارها کاهش داد اما این کاهش در برخی از تیمارها، به‌ویژه در تیمارهای تلقیح دوگانه *B. japonicum + R. irregularis* و *B. japonicum + G. fasciculatum* کمتر بود، اما برعکس، در همه تیمارها افزایش غلظت کلروفیل a، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموناز تحت تنش خشکی (۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر) در مقایسه با شرایط آبیاری نرمال مشاهده شد. در این تحقیق غلظت آهن و فسفر دانه تحت تاثیر برهمکنش تنش خشکی و میکروارگانیسم‌ها قرار نگرفت و نیز بیشترین مقدار فسفر دانه در سطح ۱۰۰ میلی‌متر، مشاهده شد. در بین تیمارها نیز، تیمارهای تلقیح دوگانه *B. japonicum + R. irregularis* و *B. japonicum + G. fasciculatum* نسبت به دیگر تیمارها، بر بهبود تحمل گیاه سویا به خشکی، اثر بیشتری داشتند. بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان تلقیح توأم گیاه سویا با باکتری ریزوبیومی و گونه *R. irregularis* میکوریزا، را برای بهبود تحمل گیاه در برابر تنش خشکی و افزایش عملکرد دانه و روغن، پیشنهاد داد.

### واژه‌های کلیدی:

تنش خشکی

ریزوبیوم

سویا

عملکرد روغن و دانه

میکوریزا

استاد: زیرک قوتوربلاغ، محمدعلی؛ مهری، شهرام؛ سلیمان‌زاده، حسین؛ انصاری، محمدحسین. (۱۴۰۳). اثر تلقیح دوگانه برادی ریزوبیوم و

گونه‌های میکوریزا بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد دانه سویا (*Glycine max L.*) تحت تنش خشکی. فیزیولوژی

محیطی گیاهی، ۱۹(۲)، ۸۶-۶۵.

## مقدمه

سویا [*Glycine max* (L.) Merr.] همانند بسیاری از گیاهان زراعی از تنش کم‌آبی، متأثر می‌شود و بسته به وضعیت آبی در مراحل ویژه‌ای از فنولوژی خود به‌ویژه دوره رشد زایشی، کمیت و کیفیت آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Bharti et al., 2018). در این راستا، گزارش شده است که کمبود آب تعداد غلاف و تعداد دانه در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت را کاهش داد (Mondani et al., 2019). علاوه بر این تنش خشکی از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Sharma et al., 2012). طی فتوسنتز در وضعیت کم‌آبی، نشت زیاد الکترون به سمت  $O_2$  اتفاق می‌افتد و انواع مختلف ROS نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن تولید می‌کند (Jiménez et al., 2021). گیاهان نیز از طریق سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده را کاهش می‌دهند (Hasanuzzaman et al., 2022).

یک سازوکار مفید برای افزایش تحمل تنش خشکی در گیاهان استفاده از ترکیباتی ارزان قیمت، پایدار و بدون آسیب به محیط زیست، مانند قارچ‌های میکوریزا است (Wang et al, 2017; Samsami et al, 2019). این قارچ‌ها از طریق رابطه همزیستی با ریشه گیاهان موجب افزایش کارایی جذب عناصر غذایی پرمصرف و حتی کم‌مصرف به‌وسیله گیاهان می‌شوند. حبوبات نیز می‌توانند با میکوریزا رابطه همزیستی برقرار کنند و زمانی که تغییری در شرایط محیطی رخ دهد همزیستی میکوریزایی می‌تواند در تحمل تغییرات ناگهانی گیاه را یاری کند (Ashwin et al., 2022). ضمن آن‌که به‌طور ویژه‌ای به‌دلیل قابلیت کلونیزاسیون عالی در سطح ریشه و قابلیت تولید دامنه وسیعی از

آنزیم‌ها و متابولیت‌ها که در شرایط مختلف تنش‌های کمبود آب می‌توانند مفید باشند، مورد توجه قرار گرفته‌اند (Elabed et al., 2019). کلونیزاسیون مکمل‌های باکتریایی<sup>۱</sup> میکوریزا مانند باکتری‌های همزیست ریزوبیومی، در سطح ریشه استقرار یافته و رابطه همزیستی را تقویت نموده و مزایای زیادی برای گیاه میزبان فراهم می‌کنند (Bencherif et al., 2019; Gough et al., 2021). پتانسیل مکمل میکوریزا-ریزوبیوم شامل فرایندهایی است که استقرار و کارایی همزیستی را متأثر نموده و منجر به تحریک جوانه‌زنی اسپور، رشد مسیل‌ها، بهبود تماس قارچ و ریشه می‌شود (Musyoka et al., 2020; Dabré et al., 2022).

تحقیقات نشان داده است باکتری‌های ریزوبیوم همزیست با لگوم‌ها، کربوهیدرات‌ها و سایر مواد غذایی را از آوند آبکشی گیاه میزبان دریافت می‌کنند و انرژی دریافتی را در تبدیل نیتروژن هوا به یون آمونیوم و تولید اسیدهای آمینه، مصرف می‌کنند (Pathania et al., 2020). باکتری برادی‌رایزوبیوم ژاپونیکوم به‌صورت طبیعی در خاک‌های ایران وجود ندارد و باید باکتری‌ها همراه بذر به خاک اضافه شوند (Asadi Rahmani et al., 2009). گزارش شده است که تلقیح دوگانه سویا با میکوریزا - برادی‌ریزوبیوم از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نفوذپذیری غشا و افزایش تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان قادر به کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی هستند (Mohammadi et al., 2019; Samsami et al., 2019). این هم‌افزایی بین میکوریزا و برادی‌ریزوبیوم، منجر به تولید ترکیبات مفید و موثر برای گیاه شده و با بهبود دسترسی مواد مغذی و القای مقاومت به گیاه در مقابل تنش‌های مختلف مانند کمبود مواد مغذی، شوری، خشکی، اسیدیته و درجه

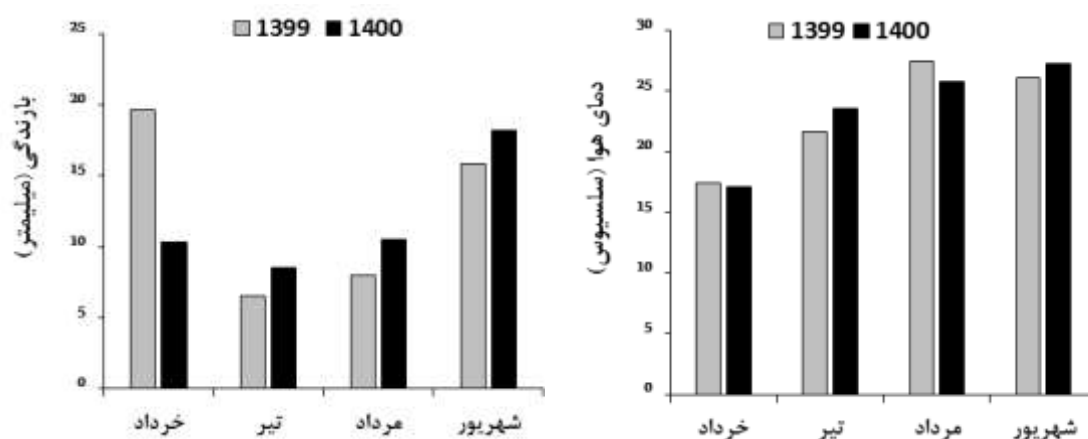
۱. Mycorrhizal helper bacteria

قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در زمین زراعی شرکت کشت و صنعت و دامپروری پارس، مغان با طول جغرافیایی ۴۷° درجه و ۱۰' دقیقه شرقی و عرض ۳۹° درجه و ۲۰' دقیقه شمالی، و ۴۵ متر بالاتر از سطح دریا، به صورت کشت دوم (بعد از برداشت گندم) اجرا شد. جهت تعیین بافت و ویژگی‌های شیمیایی خاک محل آزمایش، نمونه خاکی از عمق ۰-۳۰ سانتی متری، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. نتایج آزمون خاک در جدول ۱ ارائه شده است. میانگین بارندگی و دمای ماهیانه در طی دوره رشد محصول نیز در هر دو سال در شکل ۱ نشان داده شده است.

حرارت خاک، رشد گیاه را افزایش می‌دهد (Musyoka et al., 2020). به همین منظور مطالعه حاضر به بررسی کاربرد ترکیبی از باکتری برادی ریزوبیوم و گونه‌های قارچ میکوریزا بر ویژگی‌های کمی و کیفی سویا تحت تنش خشکی در شرایط مزرعه به مدت دو سال در دشت مغان، پرداخت.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر کمبود و کاربرد قارچ میکوریزا و باکتری برادی ریزوبیوم بر خصوصیات کمی و کیفی سویا، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در



شکل ۱: میانگین بارندگی و دمای ماهیانه در طول دوره رشد گیاه سویا (مأخذ: ایستگاه هواشناسی پارس‌آباد)

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰

سال	رس	سیلت (درصد)	شن (درصد)	آهک	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	نیترژن کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	هدایت الکتریکی	pH
									(دسی‌زیمنس بر متر)	
۱۳۹۹	۴۵/۲	۳۷/۵	۱۷/۳	۴/۰	۲۳۴	۱۹/۹	۰/۲۱۸	۲/۳۴	۰/۶۷۸	۷/۱۸
۱۴۰۰	۴۴/۶	۳۷/۰	۱۸/۴	۴/۴	۲۵۱	۱۷/۵	۰/۲۴۱	۲/۰۱	۰/۵۰۹	۶/۹۱

عنوان عامل اصلی و عامل فرعی نیز شامل تلقیح تلفیقی باکتری همزیست سویا و گونه‌های قارچ میکوریزا در هشت سطح (*Bradyrhizobium japonicum*، *Funneliformis mosseae*، *Glomus fasciculatum*، *Rhizophagus irregularis*)

تیمارهای آزمایشی عبارتند از: عامل تنش خشکی بر مبنای میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A با سه سطح شامل آبیاری نرمال (۶۰ میلی‌متر تبخیر (I60))، تنش خشکی متوسط (۱۰۰ میلی‌متر تبخیر (I100))، و تنش خشکی شدید (۱۴۰ میلی‌متر تبخیر (I140))، به

در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد. در نهایت با احتساب ۲۵ میلی‌لیتر حجم نهایی، مقادیر کلروفیل به میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ تبدیل شد و غلظت کلروفیل a، b و کل با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

معادله (۱)

$$\text{Chl a (mg g}^{-1}\text{ F.W.)} = (12.68 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) \times V/W$$

معادله (۲)

$$\text{Chl b (mg g}^{-1}\text{ F.W.)} = (22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}) \times V/W$$

معادله (۳)

$$\text{Chl a + b (mg g}^{-1}\text{ F.W.)} = (2.02 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times V/W$$

این فرمول chl a، chl b و chl a+b به ترتیب میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کل است که بر حسب عصاره گیاهی، V حجم نهایی استن مصرفی بر حسب میلی‌لیتر و W وزن بافت تر است.

**سنجش پرولین برگ:** اندازه‌گیری میزان پرولین برگ با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم بافت زنده گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالسیلیک در هاون ساییده، سپس مخلوط را با کاغذ صافی تصفیه و ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله را در لوله آزمایش ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین (حاصل از افزودن ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین به ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال به آن اضافه گردید. در مرحله بعد لوله‌ها به مدت یک ساعت و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت، پس از خروج، نمونه‌ها در حمام یخ به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند، سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محتوای هر لوله اضافه و ۳۰ ثانیه به وسیله ورتکس مخلوط گردید. لوله‌ها مدتی در دمای اتاق ثابت قرار گرفتند. در این مرحله دو لایه مجزا ایجاد و سرانجام جذب نوری لایه رنگی فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با

*B. japonicum + R. B. japonicum + F. mosseae irregularis* و *B. japonicum + G. fasciculatum* به همراه یک شاهد، بود.

بعد از برداشت گندم، آماده سازی زمین شامل شخم و دیسک انجام شد. هر کرت آزمایشی شامل ۴ خط کاشت به طول ۵ متر با فاصله بوته ۸ سانتیمتر روی خطوط کاشت و فاصله بین خطوط ۳۰ سانتیمتر بود. بعد از آماده سازی کرت‌ها، بذرها با صمغ عربی مخلوط شده و باکتری اضافه شد (برای هر کیلوگرم بذر ۷ گرم مایه تلقیح که حاوی ۱۰<sup>۷</sup> سلول باکتری زنده می‌باشد) و قارچ میکوریزا نیز زیر بستر بذر ریخته شده و سپس بذرها با دست کشت شدند. در هر نوبت آبیاری رطوبت خاک به حد ظرفیت مزرعه رسانده شد. در آزمایش تنش، تا زمان استقرار کامل گیاه (در مرحله تشکیل گره‌های ۵-۴ روی ساقه اصلی) آبیاری تمام تیمارها مشابه انجام شد. در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، از ردیف‌های وسطی هر پلات سه بوته به طور تصادفی برداشت شد و در تانکر نیتروژن مایع به آزمایشگاه ارسال گردید.

**استخراج و اندازه‌گیری رنگدانه‌ها:** برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a، b و کل، از روش Arnon (۱۹۵۴) استفاده گردید که برای این منظور ۱۰۰ میلی‌گرم (۱/۰ گرم) وزن تر برگ در داخل هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد، ساییده گردید. سپس عصاره حاصل به لوله‌های سانتریفوژ انتقال و به محلول درون لوله اضافه گردید. سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند. محلول فوقانی به بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتر انتقال یافته و حجم آن توسط استن ۸۰ درصد به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. اندازه‌گیری رنگیزه‌ها با روش اسپکتروفتومتری با دستگاه (مدل UV\_160A\_SHIMADZO ساخت کشور ژاپن) انجام گرفت. به این ترتیب که مقدار جذب محلول‌ها

شد. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیم SOD، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند تا ۵۰ درصد مانع از احیای نوری NBT گردد. فعالیت ویژه آنزیم به صورت تعداد واحدهای آنزیم در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه گزارش گردید.

در مرحله رسیدگی با رعایت حاشیه، هشت گیاه به‌صورت تصادفی از هر کرت انتخاب و برداشت شدند و تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف و تعداد دانه در بوته و نیز وزن صد دانه، تعیین شد. عملکرد دانه نیز (بر مبنای ۱۴ درصد رطوبت) از سطح پنج متر مربع از مرکز هر کرت اندازه‌گیری شد. محتوای رطوبت بذر به کمک دستگاه رطوبت سنج دیجیتالی (Model GMK-303R5-Korea) اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین وزن خشک اندام هوایی، بوته‌های برداشت شده یک مترمربع در پاکت کاغذی ریخته و سپس در آون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت خشک گردید و به‌صورت عملکرد بیولوژیک در هکتار بیان گردید. مقدار نیتروژن دانه توسط روش کج‌لدال، درصد روغن با دستگاه سوکسله و نیز مقدار فسفر به روش وانادات-مولیبدانات و مقدار آهن به روش جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** همه صفات اندازه‌گیری شده برای هر دو سال مشابه بود. نتایج ثبت شده برای مقایسه میانگین، میانگین سه تکرار در هر آزمایش است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد ( $P < 0.05$ ) مورد مقایسه قرار گرفتند. زمانی که اثر متقابل صفات معنی‌دار شد،

استفاده از تولوئن به‌وسیله اسپکتروفتومتر (مدل UV\_160A\_SHIMADZO ساخت کشور ژاپن) قرائت شد.

**اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA):** سنجش مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس روش Boominathan و Doran (۲۰۰۲) صورت گرفت. عصاره برگ در محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰ درصد از TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید در لوله آزمایش باهم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفت. سپس لوله‌ها به‌سرعت در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. هم‌زمان با عصاره‌های برگ محلول‌های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱،۳،۳-تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت غلظت مالون دی‌آلدئید نمونه‌ها برحسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

**فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD):** فعالیت آنزیم SOD از طریق اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید (NBT) — به روش Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار ( $pH = 7.8$ )، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم کلراید ۷۵ میکرومولار، اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید ۰/۱ میلی‌مولار، ریوفلاوین ۳۶۰ میکرومولار و ۳۰ میکرولیتر عصاره خام بود. پس از آن که مخلوط به هم زده شد سل‌های اسپکتروفتومتر به مدت ۱۰ دقیقه در زیر یک لامپ فلورسنت w15 به فاصله ۳۵ سانتیمتر قرار داده

مقایسه میانگین‌های اثر متقابل با استفاده از روش برش‌دهی (Slice) و روش L.S.Means انجام شد.

### نتایج

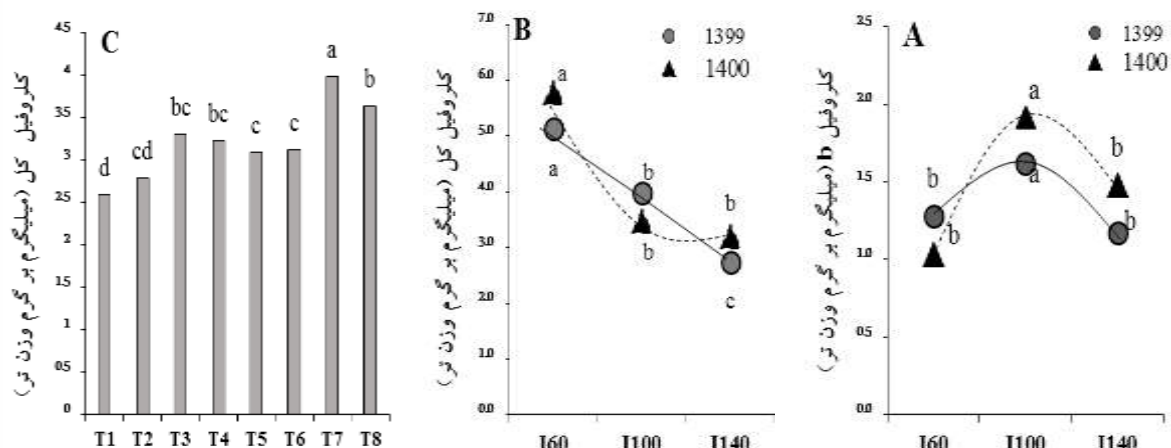
**کلروفیل برگ:** نتایج نشان داد که کلروفیل a تحت تاثیر برهمکنش سال × خشکی × میکروارگانسیم و کلروفیل b تحت تاثیر برهمکنش سال × تنش قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین کلروفیل a نشان داد که در همه تیمارها با افزایش کمبود آب، کلروفیل a کاهش یافت به طوری که این کاهش در سطح ۹۰ میلی‌متر در سال اول ۱۷-۳۱ درصد و در سال دوم ۲۰-۳۳ درصد و در سطح ۱۲۰ میلی‌متر در سال اول ۲۸-۴۹ درصد و در سال دوم ۳۱-۴۳ درصد، نسبت به سطح ۶۰ میلی‌متر (عدم تنش)، بود. در بین تیمارها نیز در اغلب سطوح کمبود آب، گیاهان تیمار شده با تلقیح دوگانه T7 و T8 نسبت به سایر تیمارها، مقدار

کلروفیل a بالاتری نشان دادند (جدول ۳). مقایسه میانگین کلروفیل b نیز نشان داد که در هر دو سال سطح خشکی ۹۰ میلی‌متر بیشترین مقدار کلروفیل b را نشان داد و بین سطوح ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (شکل ۲A). علاوه بر این کلروفیل کل نیز تحت تاثیر برهمکنش سال × تنش و اثر اصلی میکروارگانسیم، قرار گرفت (جدول ۲). شکل ۲B نشان می‌دهد که با افزایش شدت تنش کلروفیل کل کاهش یافت به طوری که از ۵/۱۱ به ۳/۴۷ و ۲/۷۳ میلی‌گرم بر گرم در سال اول و ۵/۷۶ به ۳/۵۴ و ۳/۱۸ میلی‌گرم بر گرم در سال دوم، کاهش یافت. در بین میکروارگانسیم‌ها نیز تیمارهای تلقیحی کلروفیل کل بالاتری نشان دادند و تیمارهای تلقیحی دوگانه، T7 و T8 نسبت به سایر تیمارها برتری داشتند (شکل ۲C).

**جدول ۲:** تجزیه واریانس اثر تلقیح میکروارگانسیم‌های ریزوبیوم و گونه‌های میکوریزا بر SOD، MDA، کلروفیل و پرولین تحت تنش خشکی

تعداد گره ریشه	میانگین مربعات (MS)						درجه آزادی	S.O.V
	پرولین	MDA	SOD	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل		
۱۸۳۵ns	۴۵۹۶۶**	۱۵۲۸۲۸**	۲۰۲۷۴۰**	۵/۹۱**	۲/۳۴**	۱۵/۷**	۱	Y
۳۲۸	۶۲۳۵	۶۷/۳	۱۱۱۵	۰/۱۷۱	۰/۰۵۶	۰/۲۴۴	۴	Y × R
۲۱۱۰*	۵۱۹۹ns	۱۳۳۲۶**	۲۲۴۵۰۳**	۴/۹۵**	۱/۶۳**	۱۲/۱**	۲	I
۵۹۰ns	۳۸۱۰۵**	۵۷۱۰۳**	۲۸۵۵۷*	۶/۲۳**	۲/۱۸**	۱۵/۸**	۲	Y × I
۲۹۹	۱۰۲۴۱	۱۱۸۲	۱۳۹۸۱	۰/۶۹	۰/۰۱۵	۰/۰۸۴	۸	I(Y × R)
۹۲۵ns	۷۰۹۴.ns	۲۴۸۲۰**	۲۷۴۳۱**	۰/۰۳۲ns	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۳۸ns	۷	F
۱۱۴۶ns	۲۳۸۳۲**	۱۱۷۵۶**	۲۰۱۲۵**	۰/۰۲۴ns	۰/۰۱۱ ns	۰/۰۶۷ns	۷	Y × F
۳۰۱ns	۱۶۰۶۸**	۲۲۳۱۷**	۴۶۷۳۴**	۰/۰۹۷*	۰/۰۰۷ns	۶/۱۲**	۱۴	I × F
۲۶۵۱*	۲۲۴۲۲**	۱۲۳۳۳**	۴۶۵۷۴**	۳/۷۶**	۰/۰۱۳ns	۰/۰۴۵ns	۱۴	Y × I × F
۵۸۹	۶۲۵۵	۸۶۵/۹	۶۲۶۳	۰/۰۲۳	۰/۰۱۷	۰/۰۳۵	۸۴	خطا
۹۳/۷	۳۲/۲	۲۰/۹۲	۱۹/۸۶	۱۰/۷۵	۸/۵۳	۱۱/۶۷	-	CV (%)

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱، \* معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ns: عدم تفاوت معنی‌دار. S.O.V: منبع تغییرات، df: درجه آزادی، Y: سال، R: تکرار، I: آبیاری، F: میکروارگانسیم؛ SOD: سوپراکسیددیسموتاز؛ MDA: مالون‌دی‌آلدئید.



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر برهمکنش سال × تنش خشکی بر کلروفیل b (A) و کلروفیل کل (B) و نیز اثر اصلی میکروارگانیزم بر مقدار کلروفیل کل (C). I60، I100 و I140 به ترتیب تبخیر ۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر کلاس A.

T1: شاهد، T2: *B. japonicum*, T3: *F. mosseae*, T4: *R. irregularis*, T5: *G. fasciculatum*, T6: *B. japonicum* + *F. mosseae*, T7: *B. japonicum* + *R. irregularis*, T8: *B. japonicum* + *G. fasciculatum*.

× میکروارگانیزم بر فعالیت آنزیم SOD معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر تیمارها بر فعالیت آنزیم SOD نشان داد در هر دو سال با افزایش خشکی فعالیت آنزیم SOD در همه تیمارها نیز افزایش یافت به طوری که فعالیت SOD در I100 در سال اول ۴۳/۷-۱۴/۱ درصد و در سال دوم ۳۶/۵-۱۱/۳ درصد و در سطح I140 در سال اول ۶۹/۷-۳۸/۶ درصد و در سال دوم ۵۷/۳-۲۶/۲ درصد، افزایش یافت. در بین تیمارها نیز اگرچه در سال اول بیشترین فعالیت SOD در تیمار کنترل مشاهده شد اما در سال دوم به لحاظ آماری با تیمارهای میکوریزیبی بدون کاربرد *B. japonicum*، تفاوت معنی‌دار نشان نداشت و در تیمارهای تلقیح دوگانه فعالیت SOD پایین‌تر بود. در اغلب شرایط گیاهان تلقیح شده دوگانه<sup>۱</sup> *B. japonicum* + *F. mosseae* و *B. japonicum* + *R. irregularis* پایین‌ترین فعالیت SOD را نشان دادند.

مقدار پرولین و مالون‌دی‌آلدئید در برگ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × تنش خشکی × میکروارگانیزم بر مقدار پرولین و MDA معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو سال با افزایش شدت خشکی مقدار پرولین و MDA در همه تیمارها به‌طور معنی‌دار افزایش یافت با این تفاوت که در گیاهان تلقیح دوگانه نسبت به گیاهان کنترل مقدار پرولین بیشتری مشاهده شد در حالی که مقدار MDA در گیاهان تلقیح دوگانه نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. در بین تیمارها نیز *B. japonicum* + *R. irregularis* (۵۱۰ و ۵۸۰ میکروگرم بر گرم به ترتیب در سال اول و دوم) تحت I140 بیشترین پرولین را تولید کرد اما بیشترین مقدار MDA در تیمار شاهد (۱۴۳ و ۲۰۲ نانومول بر گرم به ترتیب در سال اول و دوم)، مشاهده شد (جدول ۴). مقدار فعالیت آنزیم SOD: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × تنش خشکی

<sup>۱</sup> Co-inoculated plants



جدول ۳: مقایسه میانگین اثر برهمکنش سال و تلقیح میکروارگانیسم‌های ریزوبیوم و گونه‌های میکوریزا بر MDA و SOD

تحت تنش خشکی

تنش خشکی	میکروارگانیسم	کلروفیل a (mg g <sup>-1</sup> FW)	سوپراکسید دیسموتاز (U mg <sup>-1</sup> protein min <sup>-1</sup> )	مالون‌دی آلدئید (nmol g <sup>-1</sup> )	پرویلین (μg g <sup>-1</sup> )
	شاهد	۴/۴۵ <sup>d</sup>	۲۵۷ <sup>ab</sup>	۴۴/۰ <sup>a</sup>	۲۰۸ <sup>e</sup>
I <sub>60</sub>	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	۴/۹۴ <sup>a-d</sup>	۲۵۱ <sup>b</sup>	۳۳/۱ <sup>b</sup>	۲۷۱ <sup>b</sup>
	<i>Funneliformis mosseae</i>	۴/۵۷ <sup>cd</sup>	۲۸۳ <sup>ab</sup>	۲۹/۰ <sup>b</sup>	۲۲۰ <sup>d</sup>
	<i>Rhizophagus irregularis</i>	۴/۹۷ <sup>a-c</sup>	۲۸۷ <sup>a</sup>	۴۱/۰ <sup>a</sup>	۲۵۳ <sup>bc</sup>
	<i>Glomus fasciculatum</i>	۴/۶۸ <sup>cd</sup>	۱۸۸ <sup>b</sup>	۳۰/۴ <sup>b</sup>	۲۶۸ <sup>b</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>F. mosseae</i>	۴/۹۱ <sup>b-d</sup>	۲۶۱ <sup>ab</sup>	۳۱/۷ <sup>b</sup>	۲۵۶ <sup>bc</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i>	۵/۵۲ <sup>a</sup>	۱۶۶ <sup>cd</sup>	۳۳/۰ <sup>b</sup>	۲۳۵ <sup>cd</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i>	۵/۳۳ <sup>ab</sup>	۱۴۳ <sup>d</sup>	۲۸/۰ <sup>b</sup>	۳۱۰ <sup>a</sup>
	شاهد	۲/۷۶ <sup>d</sup>	۴۴۹ <sup>a</sup>	۱۴۲ <sup>a</sup>	۳۰۱ <sup>bc</sup>
I100	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	۲/۹۸ <sup>a-d</sup>	۲۹۱ <sup>e</sup>	۱۳۰ <sup>bc</sup>	۲۷۳ <sup>c</sup>
	<i>Funneliformis mosseae</i>	۲/۸۶ <sup>a-d</sup>	۳۵۸ <sup>abc</sup>	۱۲۱ <sup>d</sup>	۲۹۵ <sup>bc</sup>
	<i>Rhizophagus irregularis</i>	۲/۸۳ <sup>b-d</sup>	۳۳۴ <sup>cd</sup>	۱۲۶ <sup>cd</sup>	۲۸۸ <sup>bc</sup>
	<i>Glomus fasciculatum</i>	۳/۰۸ <sup>a-c</sup>	۳۶۷ <sup>b</sup>	۱۱۹ <sup>d</sup>	۳۲۲ <sup>ab</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>F. mosseae</i>	۲/۸۱ <sup>cd</sup>	۳۵۶ <sup>bc</sup>	۱۳۶ <sup>ab</sup>	۳۳۵ <sup>ab</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i>	۳/۱۱ <sup>ab</sup>	۲۹۵ <sup>e</sup>	۱۰۸ <sup>e</sup>	۳۲۴ <sup>ab</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i>	۳/۱۴ <sup>a</sup>	۳۱۶ <sup>de</sup>	۹۴/۱ <sup>f</sup>	۳۶۶ <sup>a</sup>
	شاهد	۲/۰۶ <sup>۳c</sup>	۶۶۵ <sup>a</sup>	۱۵۴ <sup>a</sup>	۳۴۶ <sup>d</sup>
I140	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	۲/۲۵ <sup>۳a-c</sup>	۶۱۱ <sup>ab</sup>	۱۳۸ <sup>b</sup>	۳۴۰ <sup>d</sup>
	<i>Funneliformis mosseae</i>	۲/۱۳ <sup>۶bc</sup>	۵۶۷ <sup>b</sup>	۱۳۵ <sup>b</sup>	۳۵۸ <sup>c</sup>
	<i>Rhizophagus irregularis</i>	۲/۳۸ <sup>۶a</sup>	۴۶۸ <sup>cd</sup>	۱۳۲ <sup>b</sup>	۳۷۳ <sup>bc</sup>
	<i>Glomus fasciculatum</i>	۲/۲۷ <sup>۳ab</sup>	۴۷۲ <sup>c</sup>	۱۳۱ <sup>b</sup>	۳۷۶ <sup>bc</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>F. mosseae</i>	۲/۳۵ <sup>۰a</sup>	۴۵۴ <sup>.cd</sup>	۱۲۹ <sup>b</sup>	۳۹۸ <sup>b</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i>	۲/۳۷ <sup>۴a</sup>	۴۰۷ <sup>d</sup>	۱۲۲ <sup>b</sup>	۵۱۰ <sup>a</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i>	۲/۲۸ <sup>۵ab</sup>	۴۵۱ <sup>cd</sup>	۱۰۵ <sup>c</sup>	۴۱۰ <sup>b</sup>
	شاهد	۳/۵۲ <sup>b</sup>	۳۷۷ <sup>a</sup>	۸۶/۰ <sup>b</sup>	۲۳۸ <sup>c</sup>
I <sub>60</sub>	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	۴/۰۷ <sup>ab</sup>	۳۶۲ <sup>a</sup>	۸۴/۷ <sup>b</sup>	۲۷۸ <sup>ab</sup>
	<i>Funneliformis mosseae</i>	۴/۱۵ <sup>ab</sup>	۳۱۴ <sup>a-c</sup>	۱۱۸ <sup>a</sup>	۲۴۱ <sup>c</sup>
	<i>Rhizophagus irregularis</i>	۳/۹۴ <sup>ab</sup>	۳۴۷ <sup>ab</sup>	۷۰/۳ <sup>c</sup>	۲۶۶ <sup>ab</sup>
	<i>Glomus fasciculatum</i>	۴/۱۷ <sup>ab</sup>	۲۵۰ <sup>c</sup>	۵۴/۱ <sup>de</sup>	۲۳۷ <sup>c</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>F. mosseae</i>	۳/۹۵ <sup>ab</sup>	۳۲۳ <sup>ab</sup>	۴۵/۷ <sup>e</sup>	۲۸۱ <sup>ab</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i>	۴/۳۶ <sup>a</sup>	۲۹۱ <sup>bc</sup>	۵۵/۴ <sup>d</sup>	۲۸۶ <sup>ab</sup>
	<i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i>	۴/۳۲ <sup>a</sup>	۲۶۵ <sup>c</sup>	۷۲/۷ <sup>c</sup>	۲۹۶ <sup>a</sup>
	شاهد	۲/۶۳ <sup>d</sup>	۴۷۲ <sup>a</sup>	۱۳۰ <sup>b-d</sup>	۲۸۴ <sup>c</sup>
I100					

۳۰۸bc	۱۴۴a	۴۷۱a	۲/۹۱c	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	
۳۲۶b	۱۴۰ab	۳۹۱b	۲/۷۴cd	<i>Funneliformis mosseae</i>	
۳۳۶b	۱۲۷cd	۴۲۳b	۲/۹۶c	<i>Rhizophagus irregularis</i>	
۲۷۶c	۱۳۶a-c	۴۲۰b	۲/۹۱c	<i>Glomus fasciculatum</i>	
۳۳۲b	۱۳۲a-d	۴۱۸b	۲/۹۵c	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۳۹۵a	۱۳۴a-d	۴۱۲b	۳/۳۵b	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۳۷۴ab	۱۲۵d	۳۹۸b	۳/۶۳a	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	
۴۵۳b	۲۰۳a	۶۳۲a	۲/۰۹۶b	شاهد	
۵۱۳ab	۱۹۸a	۶۲۴a	۲/۲۸ab	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	
۳۸۳c	۱۸۲b	۵۱۱cd	۲/۲۴ab	<i>Funneliformis mosseae</i>	
۴۶۳b	۱۵۲c	۵۴۰bc	۲/۳۱ab	<i>Rhizophagus irregularis</i>	
۴۷۹b	۱۷۰b	۵۷۲b	۲/۲۰۱ab	<i>Glomus fasciculatum</i>	I140
۴۴۹b	۱۷۷b	۴۶۸e	۲/۲۴۳ab	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۵۸۰a	۱۵۰c	۴۹۵de	۲/۴۳ a	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۵۶۶a	۱۴۳c	۵۰۷cd	۲/۵۷ a	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	

حروف مشترک در هر ستون عدم تفاوت معنی دار با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهد. I100 و I140 به ترتیب تبخیر ۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر کلاس A.

**عملکرد و اجزای عملکرد:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × تنش خشکی × میکروارگانیزم بر تعداد غلاف، تعداد دانه و عملکرد دانه و نیز وزن خشک بوته، معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه اثر تیمارها بر تعداد غلاف و دانه نشان داد که در هر دو سال با افزایش شدت تنش در همه تیمارها تعداد غلاف در سال اول ۶۲/۶-۲۸/۱ درصد و در سال دوم ۵۱/۵-۱۴/۳ درصد و تعداد دانه در سال اول ۵۸/۷-۲۱/۵ درصد و در سال دوم ۴۸/۵-۵/۳ درصد، کاهش یافت. در بین تیمارها نیز، تیمارهای دوگانه در شرایط نرمال و تنش متوسط نسبت به شاهد برتری معنی دار داشتند اما در شرایط تنش شدید برخی از تیمارهای دوگانه با شاهد تفاوت معنی دار به لحاظ آماری نداشتند و گیاهان تیمار شده با *B. japonicum + R. irregularis* بیشترین تعداد غلاف و دانه را تولید کردند. عملکرد دانه نیز مانند تعداد غلاف و دانه، در سطح I140 نسبت به I60 و

**تعداد گره ریشه:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × خشکی × میکروارگانیزم بر تعداد گره ریشه، معنی دار بود (جدول ۳). بررسی مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو سال، در تیمارهای بدون تلقیح برادی ریزوبیوم هیچ گره‌ایی روی ریشه مشاهده نشد اما در گیاهان تلقیح شده گره‌های ریزوبیومی تشکیل شده بود، با این وجود کمبود آب تعداد گره را کاهش داد و بر خلاف سطوح بدون تنش و تنش ملایم، که تیمارهای تلقیح دوگانه نسبت به تیمار تلقیحی برادی ریزوبیوم منفرد، برتری معنی دار مشاهده شد اما در شرایط تنش خشکی شدید بین تیمارهای تلقیح دوگانه و تیمار تلقیحی برادی ریزوبیوم به لحاظ آماری تفاوت معنی دار وجود نداشت. در بین تیمارها بیشترین تعداد گره ریشه در هر دو سال از گیاهان تیمار شده با *B. japonicum + G. fasciculatum* تحت شرایط بدون تنش به دست آمد (جدول ۴).

۷۸/۸ درصد و در سال دوم ۸۵/۲ درصد بود. همچنین در سطح I140 بیشترین عملکرد دانه از تیمارهای B. japonicum + F. و japonicum + R. irregularis mosseae، به دست آمد و البته تیمارهایی که فقط با ریزوبیوم و یا میکوریزا تلقیح شده بودند اگرچه نسبت به شاهد عملکرد بالاتری داشتند اما حداکثر عملکرد را زمانی نشان دادند که به صورت توأم با گیاه سویا تلقیح شدند (جدول ۳).

I100 در همه تیمارها کاهش یافت اما این کاهش در تیمارهایی که هم با میکوریزا و هم برادی ریزوبیوم تلقیح شده بودند، کمتر بود به طوری که کاهش عملکرد تیمارهای تلقیح دوگانه در سطح I140 نسبت به تیمار شاهد در سطح I60 در سال اول و دوم به ترتیب در حدود ۶۷/۵-۵۷/۶ و ۷۷/۶-۶۳/۳ درصد، بود در حالی که کاهش عملکرد دانه برای شاهد در سطح I140 نسبت به شاهد در سطح I60 در سال اول

جدول ۴: تجزیه واریانس اثر تلقیح میکروارگانسیم‌های ریزوبیوم و گونه‌های میکوریزا بر تعداد گره ریشه، تعداد غلاف، تعداد دانه، عملکرد دانه و وزن خشک اندام هوایی تحت تنش خشکی

میانگین مربعات (MS)										S.O.V	
آهن دانه	فسفر دانه	عملکرد پروتئین	عملکرد روغن	پروتئین دانه	روغن دانه	وزن اندام هوایی	عملکرد دانه	تعداد دانه	تعداد غلاف	Df	
۴۳۴۴**	۱۹/۱**	۱۴۱ ns	۰/۶۵۳ns	۱۴۱**	۲۴۰۵**	۱۵۲۸۲۸**	۳۹۵۶۶۱**	۴۲/۱ns	۱۸/۲۱*	۱	Y
۱۳۲	۰/۰۱۳	۹۵۹**	۳۱۳**	۱۳/۲	۹۱/۲	۶۷/۳	۷۷۷۲	۱۰۲	۲/۵۵	۴	Y × R
۱۰۵۲**	۶/۰۷**	۱۰۶۴۷**	۲۴۳۲**	۶۳/۷**	۲۶۸۷**	۱۳۳۲۶**	۲۱۸۱۰۰۷**	۳۰۰۶**	۵۲۴**	۲	I
۳۱۵۳**	۱۸/۱**	۲۳/۳ns	۲۲۴ ns	۷۱/۳**	۲۵۴۷**	۵۷۱۰۳**	۱۹۱۲۴۹**	۶۶۷ ns	۵/۰۴ ns	۲	Y × I
۴۳/۱	۰/۱۱	۴۸۲	۲۳۷	۹/۲۹	۴۸/۱۳	۱۱۸۲	۵۹۸۲	۴۹/۱	۲/۰۹	۸	I(Y × R)
۳۲۳*	۰/۱۶۴*	۱۰۳۹**	۴۲۸**	۲۱/۷*	۲۱/۱ns	۲۴۸۲۰**	۳۹۷۳۲**	۸۸۷ ns	۴/۲۶ ns	۷	F
۲۴۰ns	۰/۱۳۸*	۳۴/۷ ns	۱۰۲ns	۲۲/۱*	۱۶/۳ns	۱۱۷۵۶**	۶۴۷۶۹**	۱۴۰/۱**	۶/۸۹ ns	۷	Y × F
۳۹۲**	۰/۰۹۵ns	۳۸۸**	۲۴۴**	۲۶/۰**	۴۷۰**	۲۲۳۱۷**	۲۷۲۹۶**	۷۳/۲ ns	۶/۲۵ ns	۱۴	I × F
۴۰۸*	۰/۰۵۸ns	۷۷/۴ ns	۵۵/۹ns	۲۹/۴**	۶۱۹**	۱۲۳۳۳**	۴۲۶۹۰**	۹۸/۶*	۱۵/۰**	۱۴	Y × I × F
۱۱۳	۰/۰۷۱	۱۵۰	۸۳/۹	۸/۴۶	۲۰/۶	۸۶۵/۹	۵۵۰۲	۴۸/۸	۴/۳۶	۸۴	خطا
۱۹/۶	۶/۰۹	۱۶/۸	۲۰/۳	۲۴/۵	۹/۳۵	۲۰/۹۲	۲۲/۵	۳۵/۶	۲۵/۹	-	CV (%)

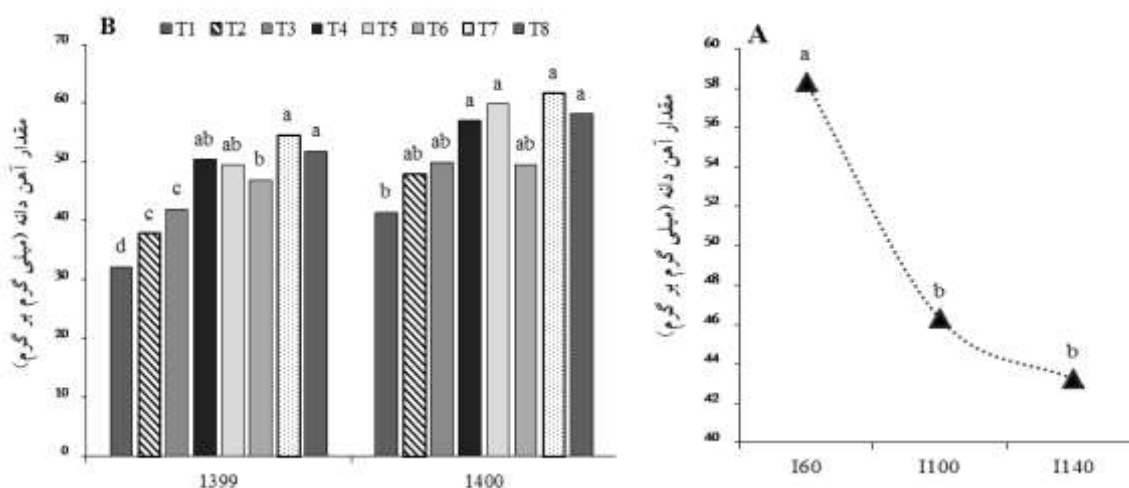
\*\* معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱، \* معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ns: عدم تفاوت معنی دار. S.O.V: منبع تغییرات، DF: درجه آزادی، Y: سال، R: تکرار، I: آبیاری، F: میکروارگانسیم؛

میکوریزایی (به جز تیمار T3 در سال دوم)، مقدار فسفر بالاتری نسبت به تیمار شاهد و برادیریزوبیوم، نشان دادند. تیمار تلقیح دوگانه T8 در هر دو سال، بیشترین افزایش مقدار فسفر، در سال اول ۶۲/۸-۲۶/۱ درصد و در سال دوم ۵۱/۵-۱۴/۳ درصد، نسبت به شاهد داشتند البته تیمار T8 در سال دوم تفاوت معنی دار با T7 نداشت. گیاهان میکوریزایی مقدار فسفر بالاتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند اما در سال دوم تیمار T3 بیشتر از تیمار برادیریزوبیوم، بود (شکل ۸).

مقدار فسفر دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × تنش خشکی و سال × میکروارگانسیم بر مقدار فسفر دانه و برهمکنش سال × تنش خشکی × میکروارگانسیم بر مقدار آهن دانه، معنی دار بود. مقایسه میانگین برهمکنش سال × تنش خشکی بر فسفر دانه نشان داد که در سال اول و دوم بیشترین مقدار فسفر در سطح I100 بود و I140 کمترین مقدار فسفر را نشان داد (شکل ۴). مقایسه میانگین برهمکنش سال × میکروارگانسیم نیز نشان داد که گیاهان

در هر دو سال تیمارهای تلقیحی نسبت به تیمار شاهد برتری نشان دادند اما این برتری در سال دوم به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. نکته مورد توجه این است که اگرچه تلقیح انفرادی با *B. japonicum* منجر به افزایش جذب آهن نسبت به شاهد شد اما اثر معنی‌دار بر قارچ‌های *R. irregularis* و *G. fasciculatum* برای جذب آهن نداشت زیرا بین تلقیح انفرادی و دوگانه *R. irregularis* و *G. fasciculatum* تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (شکل ۳).

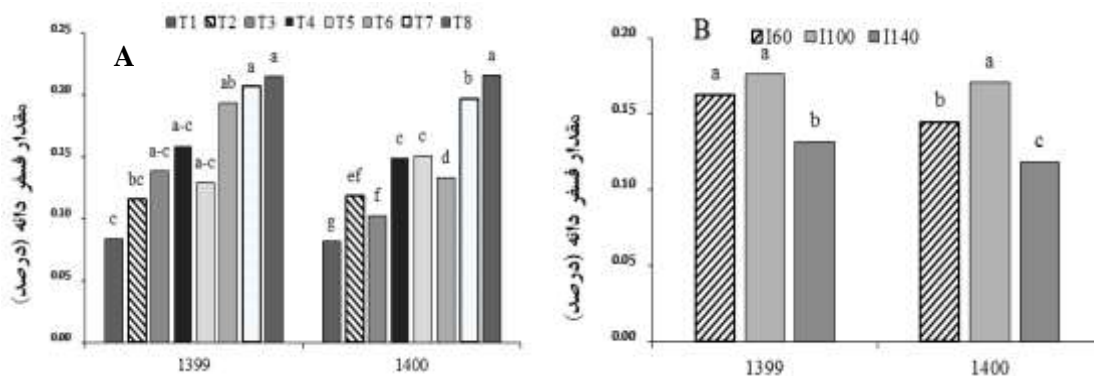
مقدار آهن دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × میکروارگانیسم و اثر اصلی تنش خشکی بر مقدار آهن دانه، معنی‌دار بود (جدول ۵). مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی بر مقدار آهن دانه نشان داد که افزایش تنش خشکی از I60 به I100 منجر به کاهش معنی‌دار مقدار آهن دانه شد اما از I100 به I140 تغییر معنی‌داری در مقدار آهن دانه مشاهده نشد (شکل ۳). مقایسه میانگین برهمکنش سال × میکروارگانیسم بر مقدار آهن دانه نشان داد که

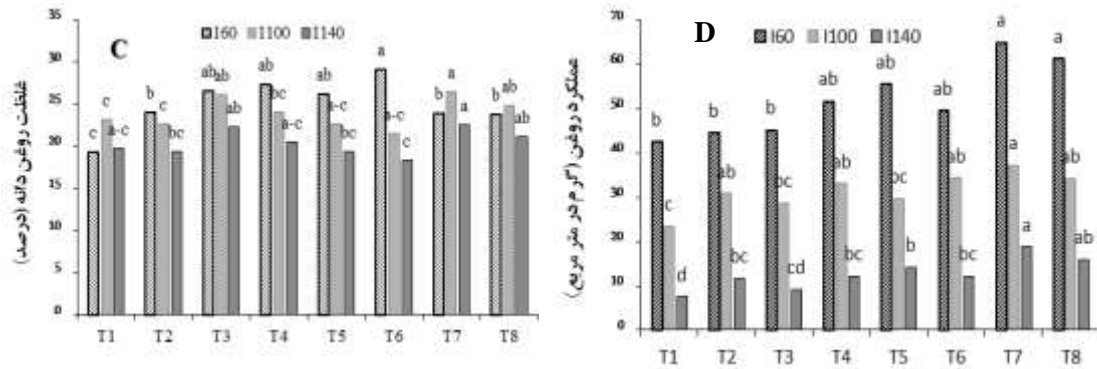


شکل ۳: مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی (A) و برهمکنش سال × میکروارگانیسم (B)، بر مقدار آهن دانه.

I60, I100, I140 به ترتیب تبخیر ۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر کلاس A.

T1: شاهد، T2: *Brady rhizobium japonicum*, T3: *Funneliformis mosseae*, T4: *Rhizophagus irregularis*, T5: *Glomus fasciculatum*, T6: *B. japonicum* + *F. mosseae*, T7: *B. japonicum* + *R. irregularis*, T8: *B. japonicum* + *G. fasciculatum*.





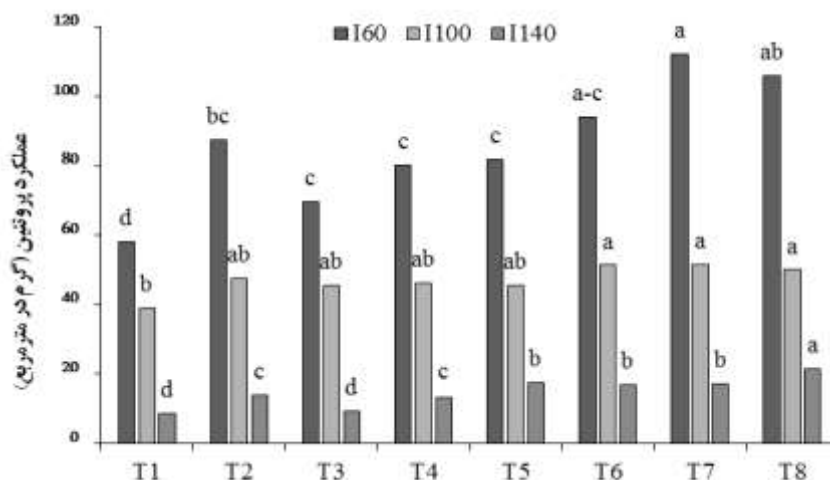
شکل ۴: مقایسه میانگین برهمکنش سال × میکروارگانیزم (A) و برهمکنش سال × تنش خشکی (B) بر مقدار فسفر دانه، برهمکنش سال × تنش خشکی × میکروارگانیزم بر درصد روغن (C) و عملکرد روغن (D). مقایسه میانگین به روش برش‌دهی انجام شده است به طوری که تیمارها در هر سطح به طور مستقل، با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد، مقایسه شده‌اند. I60، I100 و I140 به ترتیب تبخیر ۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر کلاس A.

T1: شاهد، T2: *Brady rhizobium japonicum*, T3: *Funneliformis mosseae*, T4: *Rhizophagus irregularis*, T5: *Glomus fasciculatum*, T6: *B. japonicum* + *F. mosseae*, T7: *B. japonicum* + *R. irregularis*, T8: *B. japonicum* + *G. fasciculatum*.

درصد پروتئین و عملکرد پروتئین دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سال × خشکی × میکروارگانیزم بر مقدار پروتئین دانه و برهمکنش خشکی × میکروارگانیزم بر عملکرد پروتئین، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین مقدار پروتئین دانه نشان داد که با افزایش شدت کمبود آب، در اغلب تیمارها مقدار پروتئین دانه افزایش یافت به طوری که میانگین سطوح I60، I100 و I140 به ترتیب ۳۷/۰۱، ۳۸/۴ و ۳۹/۸ درصد در سال اول و ۳۷/۶، ۳۸/۷ و ۳۹/۵ درصد در سال دوم، بود. در بین تیمارهای تلقیحی نیز در هر دو سال فقط تحت سطح I140 همه تیمارهای تلقیحی دوگانه نسبت به تیمار شاهد برتری معنی‌دار داشتند و در سایر سطوح کمبود آب تفاوت بین تیمار شاهد و برخی از تیمارهای تلقیحی دوگانه معنی‌دار نبود (جدول ۴). مقایسه میانگین عملکرد پروتئین دانه نشان داد که در هر سه سطح تنش خشکی در گیاهان تلقیح شده (به استثنای تیمار T3 در سطح I140)، نسبت به گیاهان شاهد عملکرد پروتئین بالاتری

درصد روغن و عملکرد روغن دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تنش خشکی × میکروارگانیزم، بر درصد روغن دانه و عملکرد روغن، معنی‌دار بود. مقایسه میانگین درصد روغن دانه نشان داد که به جز تیمارهای شاهد، T7 و T8، درصد روغن دانه با افزایش شدت تنش کاهش یافت و بیشترین غلظت روغن در سطح آبیاری نرمال (I60) در تیمار T6 (۲۹/۶ درصد)، و در سطح I100 و I140، در تیمار T7، مشاهده شد (شکل ۴). عملکرد روغن نیز که تابع عملکرد دانه و غلظت روغن دانه می‌باشد که همه تیمارها بیشترین عملکرد روغن را در سطح I60 نشان دادند اما تنش خشکی (در سطح I100 و I140)، در همه تیمارها منجر به کاهش عملکرد روغن از ۱۳/۱۳ تا ۶۰/۵۹ درصد، شد. بیشترین عملکرد روغن در هر سه سطح خشکی از تیمارهای تلقیح دوگانه T7 و T8 به دست آمد که عملکرد زوغن را نسبت به شاهد به ترتیب ۳۴/۳-۶۱/۷ و ۲۹/۲-۵۲/۳ درصد، افزایش دادند (شکل ۸).

مشاهده شد، به طوری که افزایش عملکرد پروتئین در تیمارهای تلقیحی نسبت به تیمار شاهد، تحت سطوح خشکی I100، I60 و I140 به ترتیب ۵/۹-۳۳/۴، ۱۸/۷-۳۷/۳ و ۱۶/۵-۴۴/۲ درصد، بود (شکل ۵).



شکل ۵: مقایسه میانگین برهمکنش سال × تنش خشکی × میکروارگانیزم بر عملکرد روغن دانه. مقایسه میانگین به روش برش‌دهی انجام شده است به طوری که تیمارها در هر سطح به طور مستقل، با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد، مقایسه شده‌اند. I60، I100 و I140 به ترتیب تبخیر ۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر کلاس A.

T1: شاهد، T2: *Brady rhizobium japonicum*, T3: *Funneliformis mosseae*, T4: *Rhizophagus irregularis*, T5: *Glomus fasciculatum*, T6: *B. japonicum* + *F. mosseae*, T7: *B. japonicum* + *R. irregularis*, T8: *B. japonicum* + *G. fasciculatum*.

جدول ۵: مقایسه میانگین اثر برهمکنش سال و تلقیح میکروارگانیزم‌های ریزوبیوم و گونه‌های میکوریزا بر تعداد گره ریشه، تعداد غلاف، تعداد دانه، عملکرد دانه، وزن خشک اندام هوایی و پروتئین دانه تحت تنش خشکی

تنش خشکی	میکروارگانیزم	تعداد گره ریشه	تعداد غلاف	تعداد دانه	عملکرد دانه (گرم در متر مربع)	وزن اندام هوایی (گرم در متر مربع)	پروتئین دانه (%)
I60	شاهد	۰/۰۰c	۱۹/۶e	۴۲/۷d	۱۴۷d	۲۰۳d	۳۳/۹b
	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	۶۱/۶b	۲۳/۱c-e	۶۲/۰bc	۲۱۱cd	۲۳۳cd	۳۸/۸ab
	<i>Funneliformis mosseae</i>	۰/۰۰c	۲۵/۵b-d	۵۸/۹bc	۲۰۵cd	۲۶۶c	۳۴/۶b
	<i>Rhizophagus irregularis</i>	۰/۰۰c	۲۱/۸de	۴۶/۵cd	۱۸۹cd	۲۶۱c	۳۶/۷ab
	<i>Glomus fasciculatum</i>	۰/۰۰c	۲۲/۳de	۴۷/۱cd	۱۹۵cd	۲۶۵c	۳۶/۰ab
	<i>B. japonicum</i> + <i>F. mosseae</i>	۷۴/۶ab	۲۷/۴bc	۶۸/۶b	۲۳۵bc	۲۶۳c	۳۸/۳ab
	<i>B. japonicum</i> + <i>R. irregularis</i>	۹۴/۹a	۳۳/۷a	۸۴/۹a	۳۰۹a	۴۳۵a	۳۹/۷a
	<i>B. japonicum</i> + <i>G. fasciculatum</i>	۸۳/۰ab	۲۹/۱ab	۷۲/۲ab	۲۸۱ab	۳۴۸b	۳۸/۱ab
I100	شاهد	۰/۰۰b	۱۴/۶bc	۲۸/۱۶c	۱۰۲c	۱۰۲d	۳۵/۸cd
	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	۴۶/۰a	۱۶/۲b	۳۱/۸bc	۱۰۹c	۱۱۶d	۳۹/۳ab
	<i>Funneliformis mosseae</i>	۰/۰۰b	۱۶/۳۷b	۳۳/۶bc	۱۰۷c	۱۳۹cd	۳۸/۵a-c

۳۶/۴b-d	۱۳۲cd	۱۱۴bc	۳۳/۴bc	۱۳/۱۲c	۰/۰۰b	<i>Rhizophagus irregularis</i>	
۳۵/۶d	۱۵۰b-d	۱۲۵bc	۳۴/۸bc	۱۳/۷۰c	۰/۰۰b	<i>Glomus fasciculatum</i>	
۳۷/۸a-d	۱۸۷a-c	۱۴۶ab	۳۸/۹b	۱۴/۹۲bc	۵۴/۰a	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۴۰/۶a	۲۲۸a	۱۶۲a	۵۲/۰a	۱۸/۶۵a	۵۹/۳a	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۴/۰۶a	۱۹۹ab	۱۷۳a	۴۸/۱a	۱۹/۶۰a	۶۹/۵a	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	
۳۷/۴۱b	۳۵/۶c	۲۴/۰e	۱۱/۲۳d	۶/۰۶b	۰/۰۰b	شاهد	
۴۰/۴۳a	۴۳/۳bc	۲۵/۶de	۱۱/۹۱d	۷/۰۱b	۲۲/۳a	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	
۳۵/۳b	۳۸/۰bc	۴۳/۴bc	۱۹/۱۲c	۷/۶۳b	۰/۰۰b	<i>Funneliformis mosseae</i>	
۴۰/۴۳a	۵۸/۳a-c	۳۷/۱cd	۱۸/۱۶c	۸/۱۲b	۰/۰۰b	<i>Rhizophagus irregularis</i>	I140
۳۵/۳۲b	۵۰/۳bc	۳۲/۵de	۱۷/۰۴c	7.33b	۰/۰۰b	<i>Glomus fasciculatum</i>	
۴۰/۵۶a	۵۸/۰a-c	۵۷/۳a	۲۸/۰a	۱۱/۷۶a	۲۶/۳a	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۴۱/۱a	۸۰/۳a	۴۹/۳ab	۲۲/۸۶b	۱۱/۰a	۳۹/۰a	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۴۲/۲۳a	۶۱/۳ab	۴۶/۰bc	۲۲/۴۷b	۱۱/۲a	۳۴/۳a	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	
۳۴/۲۵b	۱۹۸e	۱۶۳/۷d	۳۳/۰۲d	۱۹/۷e	۰/۰۰d	شاهد	
۳۷/۸۳ab	۲۸۷c-e	۲۲۷c	۳۵/۵cd	۱۶/۴f	۹/۰۷c	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	
۳۸/۸ab	۲۶۰de	۲۴۱bc	۴۶/۷bc	۲۶/۴bc	۰/۰۰d	<i>Funneliformis mosseae</i>	
۳۷/۵۲ab	۳۱۱cd	۲۵۹bc	۴۴/۵b-d	۲۳/۲d	۰/۰۰d	<i>Rhizophagus irregularis</i>	I60
۳۶/۹۱ab	۳۱۶cd	۲۳۹bc	۴۲/۱b-d	۲۴/۱cd	۰/۰۰d	<i>Glomus fasciculatum</i>	
۳۵/۸۸ab	۳۵۰bc	۲۶۸a-c	۵۱/۲ab	۲۳/۱d	۱۰/۸c	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۴۲/۵۳a	۵۱۷a	۳۰۸a	۶۱/۹a	۲۹/۲a	۸۹/۲b	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۳۸/۳۶ab	۴۱۶b	۲۷۱ab	۵۰/۳ab	۲۶/۷b	۶۱/۷a	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	
۳۸/۹a-c	۱۲۷e	۸۴/۱b	۲۴/۹۴c	۱۰/۳۶e	۰/۰۰c	شاهد	
۴۰/۱-c	۱۳۴e	۱۰۹/۵ab	۳۰/۶۶a-c	۱۴/۵۷bc	۲۴/۲b	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	
۳۵/۶c	۱۳۱e	۱۰۷ab	۲۸/۴۵bc	۱۳/۰۷cd	۰/۰۰c	<i>Funneliformis mosseae</i>	
۴۰/۴ab	۱۵۳cd	۱۱۹/۳a	۳۶/۰۳a	۱۶/۵۵a	۰/۰۰c	<i>Rhizophagus irregularis</i>	I100
۴۰/۶ab	۱۶۲bc	۱۰۶/۴ab	۳۴/۴۶ab	۱۵/۰۳ab	۰/۰۰c	<i>Glomus fasciculatum</i>	
۳۶/۵bc	۱۴۰de	۱۲۲/۶a	۳۴/۴۲ab	۱۳/۲۳c	۲۲/۶b	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۴۰/۰a-c	۱۸۹a	۱۲۸/۲a	۳۴/۹۳ab	۱۱/۵۷de	۶۰/۰a	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۴۱/۴a	۱۷۰b	۱۲۱a	۳۶/۴۴a	۱۳/۲۹c	۳۸/۷b	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	

۰/۰۰b	۳۲/۳c	۳۰/۵۵e	۱۵/۶۳c	۷/۴۶c	۰/۰۰b	شاهد	
۳۸/۵۳a-c	۵۰/۰b	۳۷/۰c-e	۱۸/۰۴c	۹/۰۳ a-c	۲۶/۹a	<i>Brady rhizobium japonicum</i>	
۳۷/۳bc	۳۷/۲c	۵۰/۱a-c	۲۴/۵۳b	۹/۵۱ a-c	۰/۰۰b	<i>Funneliformis mosseae</i>	
۴۱/۰۶ab	۵۱/۶b	۴۷/۶a-d	۲۲/۹۲b	۹/۷۶a-c	۰/۰۰b	<i>Rhizophagus irregularis</i>	I140
۳۸/۸۳a-c	۵۹/۶b	۳۵/۱de	۱۷/۷c	۸/۳۵bc	۰/۰۰b	<i>Glomus fasciculatum</i>	
۴۲/۰۳ab	۵۴/۰b	۵۹/۷a	۲۷/۳۳a	۱۱/۴۶va	۲۲/۴a	<i>B. japonicum + F. mosseae</i>	
۴۱/۶۶ab	۸۹/۳a	۵۱/۳۳ab	۲۳/۲۱b	۱۱/۲۳ab	۳۱/۷a	<i>B. japonicum + R. irregularis</i>	
۴۳/۱۳a	۷۹/۰a	۳۹/۲b-e	۱۷/۲c	۱۰/۳۳ ab	۲۷/۳a	<i>B. japonicum + G. fasciculatum</i>	

حروف مشترک در هر ستون عدم تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهد. I140 و I100، I60. ترتیب تبخیر ۶۰، ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر از تشتک تبخیر کلاس A.

## بحث

پایین‌ترین فعالیت SOD را نشان دادند. این نتایج با نتایج Musyoka و همکاران (۲۰۲۰) و Dabré و همکاران (۲۰۲۲) منطبق می‌باشد. Gough و همکاران (۲۰۲۱) علت افزایش مقدار کلروفیل برگ و افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو در گیاهان میکوریزی را ناشی از افزایش جذب آب توسط قارچ میکوریزا گزارش کردند زیرا هیف‌های قارچ میکوریزا محدوده دسترسی ریشه را در خاک گسترش داده و آب را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (Mohammadi et al., 2019). افزایش فعالیت آنزیم SOD به‌عنوان پاسخ کلی به تنش آبی (Hasanuzzaman et al., 2022)، نتیجه‌ای از مهار سنتز آنزیم یا تغییر در جمع‌آوری آنزیم‌های زیرواحد در شرایط تنش است (Fazeli et al., 2015)؛ همچنین ممکن است با تخریب ناشی از پروتئازهای پراکسی‌زومی القاشده مرتبط باشد یا ممکن است پیامد غیرفعال‌شدن نوری آنزیم باشد (Liu et al., 2008) کاهش میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید در اثر تنش خشکی شدید به‌علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه

میکروارگانسیم‌های محرک رشد گیاه در سال‌های اخیر یکی از روش‌های سازگار با محیط زیست، ارزان قیمت برای تولید پایدار گیاهان در شرایط مختلف مورد توجه قرار گرفته است. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که تلقیح گیاه سویا با برخی از گونه‌های میکوریزا به همراه باکتری برادی ریزوبیوم منجر به بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک مانند مقدار کلروفیل برگ، پرولین، MDA و فعالیت آنزیم SOD، برای افزایش تحمل گیاه تحت تنش خشکی، در هر دو سال مطالعه شد، به‌طوری که گونه‌های *R. Irregularis* و *G. fasciculatum*، به ویژه در تلقیح توام با باکتری *B. japonicum* مقدار کلروفیل a را ۱۷/۳-۴/۷ درصد تحت I100 و ۲۲/۵۶-۶ درصد تحت I140، نسبت به شاهد افزایش دادند که این افزایش برای مقدار پرولین ۱۳/۲-۳۹/۴ درصد تحت I100 و ۶/۸-۱۹/۵ درصد تحت I140، بود. اما فعالیت آنزیم SOD در اغلب تیمارها کمتر از تیمار شاهد بود و در اغلب شرایط گیاهان تلقیح شده دوگانه *B. japonicum + R. irregularis* و *B. japonicum + F. mosseae*



MDA کمتری نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده بودند که نشان دهنده دخالت هر دو نوع میکروارگانیزم در متابولیسم ROS است (Ashwin et al., 2022). گزارش شده است در اثر تنش کم آبی، غلظت MDA در گونه‌های میکوریزی نسبت به شاهد کاهش می‌یابد، اما این کاهش در گونه‌های قارچ همزیست یکسان نیست (Grümborg et al., 2015).

از طرف دیگر تجمع پرولین در شرایط تنش ممکن است به علت کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (Jiménez et al., 2021). پرولین نقش محافظت‌کنندگی آنزیم‌های سیتوزولی (حفاظت از آنزیم کربوکسیلاز) و ساختار سلولی را بر عهده دارد؛ از این رو، پرولین طی شرایط تنش در سلول انباشت می‌شود (Fang and Xiong, 2015). شرایط کم آبی از طریق افزایش بیان آنزیم‌های سنتزکننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب پرولین سبب افزایش پرولین در گیاه می‌شود (Serraj and Sinclair, 2002). معمولاً گیاهان میکوریزی با استفاده از روابط آبی و تغذیه‌ی بهتر نسبت به گیاهان بدون میکوریزا می‌توانند به‌طور موقت از شرایط تنش خشکی فرار کنند و کمتر دچار آسیب شوند و در نتیجه، میزان پرولین نسبت به گیاهان بدون میکوریزا افزایش کمتری نشان می‌دهد (Hashem et al., 2019; Oliveira et al., 2022).

یکی از عوامل اصلی تعیین‌کننده عملکرد دانه حبوبات، تعداد غلاف در بوته است که وابستگی زیادی به تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه دارد (Semba et al., 2021). نتایج ما نشان داد که اگرچه تنش خشکی منجر به کاهش عملکرد و اجزای عملکرد شد، اما میکروارگانیزم‌ها تحمل گیاه را

تجزیه این رنگیزه می‌گردند (Jiménez et al., 2021). در شرایط تنش، افزایش متوسط فعالیت SOD برگ در گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم و میکوریزا نشان می‌دهد تلقیح در این گیاهان قادر به افزایش فعالیت این آنزیم برای مقابله با خسارت اکسیداتیو ناشی از کمبود آب است؛ از این رو، میکروارگانیزم‌ها قادر به تنظیم واکنش‌های اکسیداتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند (Ortiz et al., 2015)، به طوری که تلقیح دوگانه قارچ میکوریزا و باکتری برادریزوبیوم، تولیدات آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند که این افزایش آنتی‌اکسیدانی موجب کم کردن گونه‌های فعال اکسیژن در برابر تنش و محافظت سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو می‌شود (Samsami et al., 2019).

Andrade و همکاران (۲۰۱۰) در گزارش‌های خود، افزایش فعالیت آنزیم SOD و کاتالاز (CAT) را در گیاه لوبیا تلقیح شده با میکوریزا، عنوان کردند. Salloum و همکاران (۲۰۱۸) عنوان داشتند با افزایش کلونیزاسیون ریشه، سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان توسعه یافته و باعث افزایش سطح جذب ریشه‌ها به علت نفوذ هیف‌های قارچ در خاک می‌شود و در نتیجه ریشه به حجم بیشتری از خاک دسترسی پیدا کرده و کارایی جذب آب و عناصر غذایی افزایش می‌یابد. البته با افزایش شدت خشکی مقدار پرولین و MDA در همه تیمارها افزایش یافت با این تفاوت که در گیاهان تلقیح دوگانه نسبت به شاهد مقدار پرولین افزایش و مقدار MDA کاهش یافت. در همین ارتباط Nath و همکاران (۲۰۱۶) اذعان داشتند که در شرایط تنش کم آبی، غلظت زیاد مالون‌دی‌آلدئید در برگ‌ها ممکن است با تجمع زیاد  $H_2O_2$  در گیاهان همراه باشد که نشان دهنده میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است. با وجود این، گیاهان تلقیح شده دارای

(۲۰۱۵)، نیز در مطالعه‌ای مشابه اعلام کردند که افزایش تعداد دانه و غلاف در گیاه ممکن است ناشی از اثر افزایش دسترسی به مواد غذایی توسط میکوریزا و برادی ریزوبیوم گیاه باشد که منطبق با نتایج ما می‌باشد. Musyoka و همکاران (۲۰۲۲) نیز با ارزیابی نقش میکوریزا در توسعه ریشه‌های موین ماش، گزارش کردند که میکوریزا با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و بهبود روابط آبی گیاه منجر به افزایش جذب عناصر غذایی از خاک می‌شود. گزارش شده است که هیف‌های قارچ‌های میکوریزا قادر به تأمین ۶۰ درصد از نیاز گیاه همزیست خود به فسفر هستند (Gough et al., 2021). در آزمایش ما نیز باکتری برادی ریزوبیوم در شرایط کاربرد میکوریزا بیشترین تعداد گره را نشان دادند و تیمارهای بدون تلقیح برادی ریزوبیوم فاقد گره بودند. Ashwin و همکاران (۲۰۲۲) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه گزارش کردند که برادی ریزوبیوم و قارچ میکوریزا، با افزایش رشد ریشه و فراهم نمودن عناصری مانند فسفر و آهن تعداد گره ریشه را افزایش می‌دهند. البته در مطالعه حاضر بین گونه‌های میکوریزایی از نظر غلظت فسفر و آهن تفاوت وجود داشت و در اغلب صفات گونه *R. Irregularis* و *G. fasciculatum* نسبت به دو گونه دیگر برتری داشت. البته در بررسی‌های گوناگون در زمینه گیاهان مختلف در مناطق متفاوت به‌ویژه نواحی خشک ایران، همواره گونه *F. mosseae* و *R. Irregularis* به‌شکل گونه غالب شناسایی و گزارش شده است (Alim et al., 2016; Hatami et al., 2020)، اما در مطالعه حاضر گونه *F. mosseae* نسبت به دو گونه دیگر اثر کمتری بر صفات اندازه‌گیری شده داشت که این موضوع ممکن است ناشی از سازگاری کمتر این گونه با شرایط

افزایش داده و باعث افزایش تعداد غلاف، تعداد دانه و عملکرد دانه شد که آن را می‌توان به تأمین تدریجی عناصر غذایی و بهبود شرایط فیزیولوژیک رشد نسبت داد. می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً خواص شیمیایی و فیزیکی اسید هیومیک موجود در پیرامون میکوریزا (Wang et al., 2017)، از طریق احتباس آب، افزایش ظرفیت نگهداری عناصر غذایی و افزایش هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد و نیز افزایش فعالیت میکروارگانسیم‌ها (Mondani et al., 2019)، باعث افزایش تجمع عناصر مورد نیاز در گیاه شده و تعداد ساقه فرعی، تعداد غلاف و تعداد دانه در بوته افزایش می‌یابد (Al-Karaki and Williams, 2021). میکروارگانسیم‌های مفید، به‌ویژه قارچ میکوریزا، می‌توانند بیوماس گیاه و عملکرد بیولوژیک را از طریق سنتز فیتوکروم‌ها، افزایش فراهمی مواد غذایی، آسان کردن جذب مواد غذایی، کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان، جلوگیری از عوامل بیماری‌زا و القا مقاومت سیستماتیک به عوامل بیماری‌زا افزایش دهند (Grümberg et al., 2015; Wang et al., 2017). همچنین Samsami و همکاران (۲۰۱۹)، افزایش ۴۳/۸ درصدی عملکرد بیولوژیک به واسطه تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم و میکوریزا را گزارش کرده و علت را به تولید اسید ایندول -۳- استیک (IAA) به‌وسیله این میکروارگانسیم‌ها نسبت دادند. از طرف دیگر Bharti و همکاران (۲۰۱۸)، نیز مشاهده کردند که تلقیح گیاه سویا با باکتری ریزوبیوم به طور معنی‌دار تعداد شاخه فرعی، تعداد دانه و غلاف در بوته را افزایش داد و این افزایش را ناشی از افزایش تعداد گره ریشه، تثبیت نیتروژن، جذب عناصر و همچنین تولید محرک‌های هورمونی رشد معرفی کردند. در این ارتباط Dabré و همکاران (۲۰۲۲) و Egamberdieva و همکاران

محیطی و خاکی منطقه و یا نوع گیاه میزبان و رقم آن، باشد. Augé (۲۰۰۱)، افزایش درصد کلونیزاسیون در یک گونه قارچی نسبت به گونه دیگر، به گونه گیاهی و نوع قارچ بستگی دارد و حتی ایزوله‌های یک گونه که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده باشند. بنابراین سازگاری همزیستی گونه قارچ با میزبان بستگی به نوع گیاه، گونه، وضعیت فیزیولوژیکی گیاه، شرایط خاکی (مانند pH، EC و ...) و ارتفاع از سطح دریا دارد (Wang et al., 2017).

### نتیجه‌گیری نهایی

براساس نتایج به دست آمده، با افزایش شدت تنش خشکی، عملکرد و اجزای عملکرد کاهش یافت. استفاده از گونه‌های *R. irregularis* و *G. fasciculatum* میکوریزا به‌ویژه در گیاهان تلقیح شده با *B. japonicum* نسبت به حالت عدم کاربرد آنها مثبت ارزیابی شد به طوری که خسارت اکسیداتیو

ناشی از خشکی (MDA) را کاهش و مقدار پرولین و فعالیت SOD را افزایش دادند که منتج به ارتقای تحمل گیاه به خشکی و بهبود عملکرد دانه، روغن و پروتئین در این تیمارها شد. به علاوه، تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار میزان فسفر و آهن دانه در همه تیمارها شد اما این کاهش در گیاهان تلقیحی دوگانه کمتر بود. بنابراین، نتایج ما نشان دادند استفاده از قابلیت همزیستی گونه‌های *R. irregularis* و *G. fasciculatum* قارچ میکوریزا همراه با باکتری *B. japonicum* می‌تواند آسیب‌های تنش خشکی را با بهبود برخی از صفات فیزیولوژیک گیاه سویا، کاهش دهد و تحمل تنش را بهبود بخشد. برای مطالعات مشابه آتی نیز، ارزیابی تأثیر تنش خشکی در مراحل مختلف رشد سویا تحت تلقیح گونه‌های مختلف میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد بر صفات فیزیولوژیک و زراعی، پیشنهاد می‌شود.

### References

- Al-Karaki, G. N., and Williams, M. (2021). Mycorrhizal mixtures affect the growth, nutrition, and physiological responses of soybean to water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(5): 75. <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03250-0>
- Arnon, D. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology*, 24 (1): 1-15. DOI: 10.1104/pp.24.1.1
- Asadi Rahmani, H., Saleh-Rastin, N., Khavazi, K., Asgharzadeh, A., Fewer, D., Kiani, S., and Lindström, K. (2009). Selection of thermotolerant bradyrhizobial strains for nodulation of soybean (*Glycine max* L.) in semi-arid regions of Iran. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 591-600. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9927-8>
- Ashwin, R., Bagyaraj, D.J., and Raju, B. M. (2022). Dual inoculation with rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungus improves water stress tolerance and productivity in soybean. *Plant Stress*, 4: 100084. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100084>
- Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular -arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11(1): 3-42. <https://doi.org/10.1007/s005720100097>
- Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bencherif, K., Dalpé, Y. and Sahraoui, A.L.H. 2019. Influence of native arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* on *Tamarix* shrubs under different salinity levels. In: *Microorganisms in Saline Environments: Strategies and Functions* (pp. 265-283). Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-18975-4>

- Bharti, A., Agnihotri, R., Maheshwari, H. S., Prakash, A., and Sharma, M. P. (2018). Bradyrhizobia-mediated drought tolerance in soybean and mechanisms involved. In *Silico Approach for Sustainable Agriculture*, 121-139. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-0347-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-0347-0_7)
- Boominathan, R. and Doran, P.M. (2002). Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*. *New Phytologist* 156: 202-205. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00506.x>
- Dabré, É. E., Hijri, M., and Favret, C. (2022). Influence on soybean aphid by the tripartite interaction between soybean, a rhizobium bacterium, and an arbuscular mycorrhizal fungus. *Microorganisms*, 10(6): 1196. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061196>
- Egamberdieva D, Jabborova D, Berg, G. 2015. Synergistic inter actions between *Bradyrhizobium japonicum* and the endophyte *Stenotrophomonas rhizophila* and their effects on growth, nodulation and nutrition of soybean under salt stress. *Plant and Soil*, 39: 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2661-8>
- Elabed, H., González-Tortuero, E., Ibacache-Quiroga, C., Bakhrouf, A., Johnston, P., Gaddour, K. and Rodríguez-Rojas, A. 2019. Seawater salt-trapped *Pseudomonas aeruginosa* survives for years and gets primed for salinity tolerance. *BMC microbiology*, 19(1): 142. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1499-2>
- Fang, Y. and Xiong, L. (2015) General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(4): 673-689. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>
- Fazeli, F., Najafi Zarini., H., Arefrad, M. and Mirabadi, A.Z. (2015). Assessment of relation of morphological traits with seed yield and their diversity in M4 generation of soybean mutant lines (*Glycine max* (L.) Merrill) through factor analysis. *Journal of Crop Breeding*, 7(15): 47-56. (In Persian).
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S.K. (1977). Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gough, E. C., Owen, K. J., Zwart, R. S., and Thompson, J. P. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi acted synergistically with *Bradyrhizobium sp.* to improve nodulation, nitrogen fixation, plant growth and seed yield of mung bean (*Vigna radiata*) but increased the population density of the root-lesion nematode *Pratylenchus thornei*. *Plant and Soil*, 465(1-2): 431-452. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05007-7>
- Grümberg, B. C., Urcelay, C., Shroeder, M. A., Vargas-Gil, S., and Luna, C. M. (2015). The role of inoculum identity in drought stress mitigation by arbuscular mycorrhizal fungi in soybean. *Biology and Fertility of Soil*, 51:1-10. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0942-7>
- Hasanuzzaman, M., Raihan, M. R. H., Nowroz, F., and Fujita, M. (2022). Insight into the mechanism of salt-induced oxidative stress tolerance in soybean by the application of *Bacillus subtilis*: Coordinated actions of osmoregulation, ion homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification. *Antioxidants*, 11(10): 1856. <https://doi.org/10.3390/antiox11101856>
- Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Wirth, S., and Egamberdieva, D. (2019). Comparing symbiotic performance and physiological responses of two soybean cultivars to arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(1): 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.11.015>
- Hatami N., Bazgir E., Sedaghat E. 2020. Darvishnia M. Isolation and study of morphology and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi coexisting with the roots of some medicinal plants in Kerman province. *Agricultural Biotechnology Journal*, 12(1): 23-44. [10.22103/JAB.2020.15110.1189](https://doi.org/10.22103/JAB.2020.15110.1189)

- Jiménez, A., Sevilla, F., and Martí, M. C. (2021). Reactive oxygen species homeostasis and circadian rhythms in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72(16):5825-5840. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab318>
- Liu, J., Xie, X., Du, J., Sun, J. and Bai, X. (2008) Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Horticultural Science*, 115: 190-195. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.003>
- Mohammadi, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., Pirdashti, H., Zand, B. and Tahmasebi-Sarvestani, Z. (2019) Arbuscular mycorrhizae alleviate water deficit stress and improve antioxidant response, more than nitrogen fixing bacteria or chemical fertilizer in the evening primrose. *Rhizosphere*, 9: 76-89. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.11.008>
- Mohebi Anabat M., Riahi H., Zangeneh S. (2015). Investigation on Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) associated with *Crocus sativus* in Khorasan Razavi and Southern Khorasan provinces (north east of Iran). *Rostaniha*, 16(2): 200-205. 10.22092/BOTANY.2016.105988
- Mondani, F., Khani, K., Honarmand, S. J., and Saeidi, M. (2019). Evaluating effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the radiation use efficiency and yield of soybean (*Glycine max*) underwater deficit stress condition. *Agricultural Water Management*, 213: 707-713. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.11.004>
- Musyoka, D. M., Njeru, E. M., Nyamwange, M. M. E., and Maingi, J. M. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi and Bradyrhizobium co-inoculation enhances nitrogen fixation and growth of green grams (*Vigna radiata* L.) under water stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(7): 1036-1047. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1711940>
- Nath, M., Bhatt, D., Prasad, R., Gill, S. S., Anjum, N. A., and Tuteja, N. (2016). Reactive oxygen species generation-scavenging and signaling during plant-arbuscular mycorrhizal and Piriformospora indica interaction under stress condition. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1574. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01574>
- Oliveira, T. C., Cabral, J. S. R., Santana, L. R., Tavares, G. G., Santos, L. D. S., Paim, T. P., and Mendes, G. C. (2022). The arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus* improves physiological tolerance to drought stress in soybean plants. *Scientific Reports*, 12(1): 9044. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13059-7>
- Ortiz, N., Armada, E., Duque, E., Roldán, A. and Azcón, R. (2015) Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *Journal of Plant Physiology*, 174: 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.08.019>
- Pathania, P., Rajta, A., Singh, P. C., and Bhatia, R. (2020). Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30: 101842. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101842>
- Salloum, M. S., Menduni, M. F., and Luna, C. M. (2018). A differential capacity of arbuscular mycorrhizal fungal colonization under well-watered conditions and its relationship with drought stress mitigation in unimproved vs. improved soybean genotypes. *Botany*, 96(2): 135-144. <https://doi.org/10.1139/cjb-2017-0137>
- Samsami, N., Nakhzari Moghaddam, A., Rahemi Karizaki, A., and Gholinezhad, E. (2019). Effect of mycorrhizal fungi and rhizobium bacterial on qualitative and quantitative traits of soybean in response to drought stress. *Journal of Crops Improvement*, 21(1): 13-26. <https://doi.org/10.22059/jci.2019.262185.2066>
- Semba, R. D., Ramsing, R., Rahman, N., Kraemer, K., and Bloem, M. W. (2021). Legumes as a sustainable source of protein in human diets. *Global Food Security*, 28: 100520. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2021.100520>
- Serraj, R. and Sinclair, T. R. (2002) Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*, 25(2): 333-341. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x>

Wang, W., Shi, J., Xie, Q., Jiang, Y., Yu, N., and Wang, E. (2017). Nutrient exchange and regulation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Molecular Plant*, 10(9): 1147-1158. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.07.012>