Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 48, No 4, Winter 2017 (901-911)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.210402.654143

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۶ (ص ۹۱۱-۹۰۱)

تأثیر کاربرد مایکوریزا و برادی ریزوبیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا در مقادیر مختلف کود نیتروژن

محمدعلی ابوطالبیان*[1] و معصومه مالمیر[2]

۱. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰٤/۰۲- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۱)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد مایکوریزا و برادی‌ریزوبیوم بر عملکرد سویا در سطوح مختلف کود نیتروژن شروع (استارتر)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در بهار و تابستان سال ۱۳۹٤ در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه بوعلی سینای همدان انجام شد. کود شروع در سه سطح ۰، ۳۰ و ٦۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، برادی ریزوبیوم در دو سطح کاربرد و بدون کاربرد و مایکوریزا (*Glomus mossea*) نیز در دو سطح کاربرد و بدون کاربرد، عامل‌های این آزمایش بودند. نتایج نشان داد، ارتفاع بوته، شمار برگ در بوته، عملکرد و اجزای عملکرد دانه، عملکرد زیست‌توده (بیوماس) و درصد پرگنه شدن (کلونیزاسیون) مایکوریزا به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهمکنش عامل‌های مورد بررسی قرار گرفتند. بیشترین شمار غلاف در بوته از ترکیب تیماری ۳۰ کیلوگرم نیتروژن با برادی ریزوبیوم به دست آمد؛ همچنین هر دو کود زیستی توانستند شمار غلاف در بوته را افزایش دهند. بیشترین وزن هزاردانه نیز از تلقیح همزمان گیاهان با برادی ریزوبیوم و مایکوریزا در بدون کاربرد نیتروژن به دست آمد. کاربرد ٦۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، کاهش ۲۰/۲۲ درصدی پرگنه شدن مایکوریزا را نسبت به بدون کاربرد کود شروع در پی داشت. کاربرد همزمان برادی ریزوبیوم و مایکوریزا در سطح ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، بیشترین عملکرد دانه (۵۱۱/٦۷ گرم در مترمربع) و عملکرد زیست‌توده (۱۲۲۳/۱٦ گرم در مترمربع) را تولید کرد. بنابراین کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن شروع به همراه کاربرد همزمان برادی ریزوبیوم و مایکوریزا ، ضمن تولید عملکرد بالا، کاهش کاربرد کود شیمیایی نیتروژن را در پی دارد.

واژه‌های کلیدی: **درصد پرگنه شدن، کود زیستی، وزن هزاردانه.**

Effect of mycorrhiza and bradyrhizobium on yield and yield components of soybean in different amounts of nitrogen fertilizer

Mohammad Ali Aboutalebian*1, Masoumeh Malmir2

1. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University
2. M.Sc. student of Agronomy, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University

(Received: June 22, 2016- Accepted: January 30, 2017)

ABSTRACT

In order to study the effect of mycorrhiza and bradyrhizobium on yield and yield components of soybean under different amounts of starter nitrogen fertilizer, a field experiment was conducted at the agricultural research station, Bu-Ali Sina University in 2015 growing season. A factorial experiment based on randomized complete block design was arranged with three replications. Experiment factors included three levels of starter nitrogen fertilizer including 0, 30 and 60 kg ha^{-1}, bradyrhizobium including inoculated and non-inoculated and mycorrhiza including application and non-application. Results indicated that plant height, number of leaves per plant, yield and yield components and biological yield of soybean and mycorrhizal colonization percentage affected by interaction of studied factors. At all levels of starter nitrogen, interaction between bradyrhizobium and mycorrhiza increased number pod per plant and 1000 seed weight. Application of 60 kg ha^{-1} nitrogen decreased colonization percentage by 20.22 % compared to no application nitrogen treatment. Application of both bio-fertilizers with 30 kg ha^{-1} nitrogen gave the highest grain and biological yields (511.67 g m^{-2} and 1223.16 g m^{-2} respectively). So to improve soybean performance and reduce the nitrogen fertilizer consumption, it is recommended that both fertilizers to be taken simultaneously with 30 kg ha^{-1} nitrogen as starter.

Keywords: Bio-fertilizer, Colonization percentage, 1000 seed weight.

* Corresponding author E-mail: aboutalebian@yahoo.com

مقدمه

بیش از ۹۰ درصد نیاز داخلی کشور به روغن از راه واردات تأمین می‌شود و قیمت جهانی آن، هرساله رو به افزایش است. بنابراین افزایش تولید گیاهان دانه روغنی و حرکت به سمت خودکفایی در تولید روغن، امری ضروری به نظر می‌رسد. در این زمینه گیاه سویا (*Glycine max* L.) با داشتن ۲۵-۱۸ درصد روغن، ۵۰ -۳۰ درصد پروتئین، تولید کنجالهٔ مرغوب، داشتن انواع ویتامین، قابلیت بالای هضم روغن آن و وجود اسیدهای چرب غیراشباع، اهمیت ویژه‌ای دارد (Khaje-poor, 2006). یکی از مهم‌ترین مسائل در بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاهان دانه روغنی، تغذیهٔ درست و مناسب در طول فصل رشد و تأمین عنصرهای غذایی مورد نیاز گیاه است. در سال‌های اخیر افزایش قیمت کودهای شیمیایی در جهان و ضرورت اقتصادی کردن تولید، آلودگی آب‌های زیرزمینی و تخریب ساختمان خاک در اثر کاربرد بی‌رویهٔ کودهای شیمیایی، ضرورت بازنگری در روش و میزان کاربرد این دسته از نهاده‌های شیمیایی را ایجاب کرده است، به‌طوری‌که امروزه استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی به‌عنوان یک راهکار مؤثر در کاهش کاربرد این نهاده‌های شیمیایی مطرح شده است.

گیاهان خانوادهٔ بقولات (Fabaceae) از جمله سویا این توانایی را دارند که بخشی از نیتروژن مورد نیاز خود را از راه برقراری رابطهٔ همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم تأمین نمایند. گزارش‌ها گویای آن است تا هنگامی‌که ریشهٔ این گیاهان به‌اندازهٔ کافی با این باکتری آلوده نشده باشد، کاربرد میزان مناسبی از کود شروع (استارتر) نیتروژن برای تحریک رشد اولیهٔ گیاه لازم است (Majnoon Hoseini, 1997). به‌بیان‌دیگر این گیاهان نمی‌توانند همهٔ نیتروژن مورد نیاز خود را با سامانهٔ همزیستی تأمین کنند (Dakora, 2003). بنابراین کاربرد نیتروژن مکمل از راه کاربرد کودهای شیمیایی برای دستیابی به بیشترین ظرفیت عملکردی در این گیاهان، امری ضروری است. اما متأسفانه در کشور ایران با کاربرد بی‌رویه و نامتعادل کودهای نیتروژنی که تأثیر منفی بر فعالیت باکتری‌ها و آنزیم‌های تثبیت نیتروژن دارند، عملکرد رضایت بخشی از این گیاه به دست نمی‌آید (Taher khani *et al*., 2007). در نتایج یک تحقیق گزارش شد، تلقیح بذرهای نخود (*Cicer arietinum*) با باکتری ریزوبیوم به همراه کاربرد ۵۰ درصد کود نیتروژن مورد نیاز گیاه، سبب افزایش عملکرد زیست‌توده (بیوماس) و دانه شد (Saini *et al*., 2004). همچنین در بررسی تأثیر مقادیر مختلف کود شروع در نخود گزارش شد، کاربرد نیتروژن در مقادیر ۱۵ و ۳۰ کیلوگرم در هکتار افزون بر بهبود صفات رشدی گیاه، تأثیر مثبتی بر تثبیت زیستی (بیولوژیکی) نیتروژن اعمال کرد ولی مقادیر بالاتر کود شروع اثر بازدارندگی بر توانایی باکتری‌های ریزوبیوم داشت (Walley *et al*., 2005).

امروزه قارچ‌های (مایکوریزا) نیز با توجه به نقش مهمی که در فراهمی و تأمین عنصرهای غذایی و بهبود حاصلخیزی خاک ایفا می‌کنند مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند. این قارچ‌ها با افزایش جذب و انتقال آب و مواد غذایی و افزایش نورساخت یا فتوسنتز (Ruiz-Sanchez*et al*., 2010) افزایش غلظت هورمون‌های گیاهی (Cardoso & Kuyper, 2006) و افزایش مقاومت گیاه به شرایط نامساعد محیطی (Heidari & Karami, 2014) افزون بر بهبود رشد و نورساخت گیاه، می‌توانند بر همزیستی گیاه با دیگر ریز جانداران از جمله باکتری‌های ریزوبیوم نیز مؤثر باشند (Chalk *et al*., 2006). درواقع برقراری یک رابطهٔ همزیستی سه‌گانه بین گیاه به‌عنوان میزبان و باکتری‌های ریزوبیوم و قارچ‌های مایکوریزا موجب بهبود رشد گیاه می‌شود (Ortas, 2004) و با تقویت تأثیر یکدیگر، نقش مؤثرتری در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان خواهند داشت. در نتایج آزمایشی Damavandi *et al*. (2013) اظهار داشتند، کاربرد همزمان ریزوبیوم و مایکوریزا با تشدید تأثیر یکدیگر، منجر به افزایش عملکرد دانهٔ سویا شدند. در نتایج تحقیق دیگری گزارش شد، کاربرد مایکوریزا باعث افزایش عملکرد زیست‌توده، وزن خشک ساقه، شمار دانه در غلاف و شمار غلاف در بوتهٔ نخود شد

(Mohammadi *et al.*, 2014). همچنین در نتایج بررسی دیگری گزارش شده است، کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن به همراه تلقیح سویا با برادی ریزوبیوم، عملکرد دانهٔ این گیاه را افزایش داد. در بررسی تأثیر تلقیح دوگانهٔ مایکوریزا و ریزوبیوم (*Rhizobium phaseoli*) بر عملکرد رقم‌های مختلف لوبیا (*Phasaeolous vulgaris*) گزارش شد، عملکرد این گیاه تحت کاربرد همزمان قارچ‌های مایکوریزا و باکتری‌های ریزوبیوم نسبت به کاربرد منفرد آن‌ها برتری قابل توجهی داشت (Safa-poor *et al.*, 2010). بنابراین در این پژوهش، واکنش عملکرد سویا تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا و کاربرد مقادیر مختلف کود شروع نیتروژن ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه بوعلی سینای همدان (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۱ دقیقهٔ شمالی و طول جغرافیایی۴۸ درجه و ۳۱ دقیقهٔ شرقی با ارتفاع ۱۶۹۰ متر از سطح دریا) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اول کود شروع نیتروژن در سه سطح ۰، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن از منبع اوره، عامل دوم شامل مایهٔ تلقیح حاوی *Bradyrhizobium japonicum* در دو سطح کاربرد و بدون کاربرد و عامل سوم مایکوریزا (*Glomus mossea*) در دو سطح کاربرد و بدون کاربرد بود.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1 . Physical and chemical characteristics of the soil

Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	Soil texture	pH	Organic carbon (٪)	Total nitrogen (%)	Available potassium (mg kg^{-1})	Available phosphorous (mg kg^{-1})
35	45	20	Clay loam	7.6	0.72	0.01	220	8.2

هر واحد آزمایشی شامل شش خط کاشت به فاصلهٔ ۵۰ سانتی‌متر و طول ۵ متر بود. فاصلهٔ بوته‌ها روی ردیف نیز ۵ سانتی‌متر بود، به‌طوری‌که تراکم کشت چهل بوته در مترمربع به دست آمد. بین هر بلوک نیز ۱ متر فاصله در نظر گرفته شد. برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش، از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری انجام شد که نتایج آن در جدول ۱ بیان شده است. پیش از کاشت بر پایهٔ نتایج آزمون خاک ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود سوپرفسفات تریپل کاربرد شد. پس از آماده‌سازی زمین، بذرها بر پایهٔ کمینه دمای مورد نیاز برای جوانه‌زنی سویا (۱۵ درجهٔ سلسیوس) در دهم خرداد کاشته شدند. آبیاری به‌صورت بارانی هر ده روز یک‌بار صورت گرفت. بذر سویا (رقم M9) و مایهٔ تلقیح برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم از بخش تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی همدان تهیه شد. رقم M9 رقمی زودرس و از گروه رسیدگی ۲، رشد نامحدود و چند شاخه بوده که به ریزش و خوابیدگی مقاوم است. مایهٔ تلقیح برادی‌ریزوبیوم (*Bradyrhizobium japonicum*) به شکل مایع بود که در هر میلی‌لیتر آن $۸/۵\times۱۰^{۱۱}$ یاختهٔ زنده و فعال باکتری وجود داشت. بذرها با مایهٔ تلقیح برادی-ریزوبیوم به میزان ۱ لیتر در هکتار آغشته شده و پس از خشک شدن در سایه به مدت یک ساعت، در کرت‌های مورد نظر کشت شدند. کود زیستی مایکوریزا آربوسکولار گونهٔ *Glomus mossea* با ۱۵۰ اسپور قارچ در هر گرم، از شرکت زیست فناوران توران شاهرود با نام تجاری مایکوپرسیکا تهیه شد که بنا بر توصیه شرکت سازنده به میزان ۲۰ گرم در هر مترمربع به‌صورت نواری در کنار بذر هنگام کاشت مصرف شد. برای جلوگیری از آبشویی نیتروژن، بین کرت‌ها یک خط نکاشت وجود داشت که با توجه به فاصله‌های ۵۰ سانتی‌متری بین خطوط کاشت و همچنین رعایت اثر حاشیه در نمونه‌گیری، این مشکل برطرف شد. برای اندازه‌گیری عملکرد زیست‌توده و عملکرد دانه، برداشت از سطح ۳ مترمربع از هر کرت انجام شد.

صفاتی مانند ارتفاع، شمار برگ در بوته، شمار غلاف در بوته، شمار دانه در غلاف و وزن هزاردانه نیز از میانگین اعداد به‌دست‌آمده از ده بوته در هر کرت به دست آمد. برای تعیین درصد پرگنه شدن (کلونیزاسیون) مایکوریزایی ریشه‌ها، از روش رنگ‌آمیزی Philips and Hayman (1980) استفاده شد. برای این کار، از هر کرت آزمایشی، ریشه‌های پنج بوته با بیل از خاک خارج شدند که روی توری فلزی با آب شسته شده و برای نمونه‌برداری به آزمایشگاه برده شدند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها پس از آزمون نرمال بودن باقیماندهٔ داده‌ها (آزمون شاپیرو – ویلک) بر پایهٔ مدل آماری طرح، با نرم‌افزار SAS Ver. 9.1 انجام شد. مقایسهٔ میانگین‌های اثر متقابل با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد با نرم‌افزار Mstat-c صورت گرفت. رسم شکل‌ها نیز به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

در این پژوهش ارتفاع بوته‌های سویا تحت تأثیر اثر اصلی سطوح مختلف نیتروژن، برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا قرار گرفت. همچنین برهمکنش‌های دوگانهٔ نیتروژن در مایکوریزا و برادی‌ریزوبیوم در مایکوریزا به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار شد. برهمکنش سه گانهٔ عامل‌های مورد بررسی در این تحقیق نیز در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

بیشترین ارتفاع بوته (۸۰/۸۳ سانتی‌متر) در کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در شرایط نبود مایکوریزا و برادی‌ریزوبیوم به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در حضور هر دو ریزجاندار (میکروارگانیسم) نداشت (جدول ۴). به نظر می‌رسد در شرایط کاربرد مقادیر بالای نیتروژن شروع، گره‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن و همچنین همزیستی ریشه با مایکوریزا صورت نگرفته است و وجود نیتروژن زیاد در خاک بر رابطه‌های همزیستی گیاه با ریزجانداران تأثیر منفی داشته است (Shiri Janagard & Raei, 2014). البته کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در حضور هر دو ریزجاندار توانست ارتفاع بوته‌های سویا را به حد کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در شرایط نبود مایکوریزا و برادی‌ریزوبیوم افزایش دهد (جدول ۴). کمترین ارتفاع گیاه از عدم کاربرد کود شروع و بدون کاربرد کودهای زیستی به دست آمد. در نتایج یک تحقیق گزارش شد، با افزایش کاربرد کود نیتروژنی اوره تا ۹۰ کیلوگرم در هکتار، ارتفاع سویا افزایش یافت (Seyyedi & Mir sharifi, 2013).

در این تحقیق کاربرد مایکوریزا و برادی‌ریزوبیوم نیز با تأمین شرایط تغذیه‌ای مناسب و افزایش رشد رویشی گیاه، منجر به افزایش ارتفاع گیاه نسبت به تیمار شاهد شدند (جدول ۳۴). که با نتایج Al-karaki *et al.* (2004) روی گندم (*Triticum aestivum*) همخوانی دارد. کودهای زیستی از جمله مایکوریزا با بهبود شرایط رطوبتی، جذب بهتر عنصرهای غذایی و القای تولید برخی هورمون‌ها از جمله اکسین باعث افزایش رشد رویشی و ارتفاع گیاه می‌شود (Dakora, 2003). در نتایج آزمایشی Damavandi *et al.* (2013) اظهار داشتند، کاربرد مایکوریزا و ریزوبیوم، جذب عنصرهای غذایی از جمله فسفر و نیتروژن را در گیاه افزایش می‌دهد. که این امر باعث افزایش رشد رویشی گیاه از جمله ارتفاع بوته‌ها می‌شود. در یک تحقیق گزارش شد که کاربرد مایکوریزا و ریزوبیوم به‌صورت همزمان باعث افزایش ارتفاع ساقه در لوبیا شد (Safa-poor *et al.*, 2010).

شمار برگ در بوته

نتایج تجزیهٔ واریانس گویای آن است که از بین اثر مورد بررسی تنها اثر اصلی (کود نیتروژن شروع، مایکوریزا و ریزوبیوم) بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسهٔ میانگین‌ها نیز نشان داد، کاربرد ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نسبت به بدون کاربرد نیتروژن باعث افزایش ۲۵ درصدی شمار برگ در بوته شد اما با تیمار کاربرد ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در یک گروه آماری قرار داشت (جدول ۳). همچنین تلقیح بذرهای سویا با باکتری برادی‌ریزوبیوم و کاربرد مایکوریزا ، به ترتیب ۱۹/۴۹ و ۳۲/۰۳ درصد افزایش شمار برگ در بوته را در پی داشت (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس صفات مورد بررسی سویا تحت تأثیر نیتروژن، برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا

Table 2. Analysis of variance for studied traitsof soybean affected by Nitrogen, Bradyrhizobium and Mycorrhiza

S.O.V	DF	Mean of squares								
		Height	Leaf per plant	Pod per plant	Seed per pod	1000 seed weight	Seed yield	Biological yield	Harvest index	Colonization percentage
Block	2	227.5**	139.1^{ns}	50.79**	1.5**	435.4**	8958.1**	52343.6**	0.15 ^{ns}	83.6**
N	2	582.3**	338.9*	26.70**	0.58**	168.2^{ns}	35823.6**	92524.3**	51.22 **	277.4**
B	1	658.7**	576*	41.17**	1.36**	1253.7**	37650.2**	206075.1**	58.12 *	318.4**
M	1	484**	1393.7**	24.92**	0.37*	649.9**	36290.2**	86497.7**	68.75 **	46635**
N× B	2	28.5^{ns}	31.2^{ns}	12.25**	0.11^{ns}	15.5^{ns}	3001.5*	13355.8*	13.38 ^{ns}	6.2^{ns}
N× M	2	51*	79^{ns}	1.14^{ns}	0.08^{ns}	43.7^{ns}	10995.1**	35456.2**	8.03 ^{ns}	257.3**
B× M	1	121**	0.4^{ns}	10.56*	0.15^{ns}	15.8^{ns}	10468**	5950.8^{ns}	4.30 ^{ns}	10^{ns}
N× B× M	2	39.5*	7.9^{ns}	1.42^{ns}	0.01^{ns}	259.7*	2830.7*	18214.4*	1.05 ^{ns}	7.6^{ns}
Error	22	10.27	78.31	2.45	0.06	73.3	681.5	3432	8.58	9.8
Coefficient of variation (%)		4.69	9.64	6.73	10.69	5.11	6.72	5.73	7.74	7.09

N: Starter nitrogen fertilizer, B: Bradyrhizobium and M: Mycorrhiza

*، ** و ^{ns} به ترتیب، معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

**, *, ns: Significant at 1% and 5% probability level, Non-significant difference, respectively

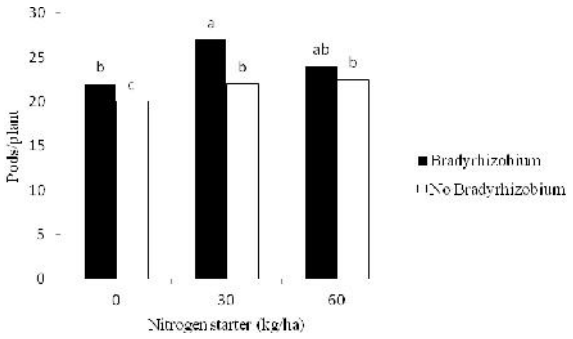
جدول ۳. مقایسهٔ میانگین‌های صفات مورد بررسی سویا تحت تأثیر نیتروژن، برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا

Table 3. Mean comparisons of studied factors of soybean affected by Nitrogen, Bradyrhizobium and Mycorrhiza

Studied factors	Leaves/ plant	Seeds/ pod	Harvest index (%)	Symbiosis (%)
Nitrogen (kg/ha)				
0	38.95 ^{b}	2.13 ^{c}	35.46 ^{b}	48.82 ^{a}
30	47.50 ^{a}	2.58 ^{a}	39.22 ^{a}	44.35 ^{b}
60	48.70 ^{a}	2.35 ^{b}	38.83 ^{a}	39.21 ^{c}
Brady Rhizobium				
Inoculated	49.05 ^{a}	2.55 ^{a}	38.8 ^{a}	47.10 ^{a}
Control	41.05 ^{b}	2.16 ^{b}	35.48 ^{b}	41.15 ^{b}
Mycorrhiza				
Applicated	51.27 ^{a}	2.46 ^{a}	39.21 ^{a}	80.12 ^{a}
Control	38.83 ^{b}	2.25 ^{b}	36.45 ^{b}	8.14 ^{b}

میانگین‌های دارای دست‌کم یک حرف مشترک در هر ستون، بدون اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

Means in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different by LSD at 5% probability level.



شکل ۱. شمار غلاف در بوتهٔ سویا تحت تأثیر برهمکنش نیتروژن در ریزوبیوم

Figure 1. Number of pod per plant in soybean affected by interaction between Nitrogen×Rhizobium

بر پایهٔ یافته‌های Zarei *et al.* (2012) کاربرد برادی‌ریزوبیوم و ۵۰ درصد نیتروژن مورد نیاز گیاه به همراه باکتری‌های محرک رشد باسیلوس و سودوموناس باعث افزایش رشد رویشی و شمار شاخهٔ فرعی در سویا شد که منجر به افزایش شمار برگ در بوته شد. وجود سازوکارهای دیگری به غیر از تأمین عنصرهای

غذایی با کاربرد برادی ریزوبیوم و مایکوریزا مطرح می‌شود که از جملهٔ آن‌ها می‌توان به تحریک و افزایش تولید فیتوهورمون‌های رشدی در گیاه اشاره کرد. این ریز جانداران با تحریک تولید هورمون‌های رشد از جمله ایندول استیک اسید (Ahmad *et al*., 2005) و اکسین (Dakora, 2003) در گیاه باعث افزایش ارتفاع و شمار برگ در بوته شده است.

شمار غلاف در بوته

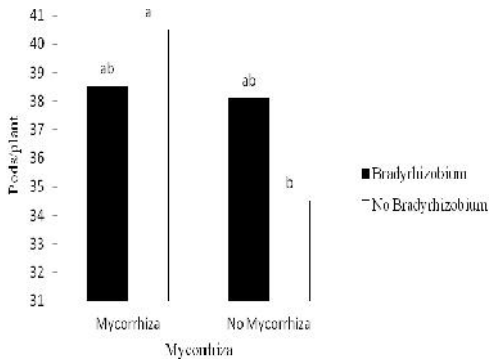
نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد، شمار غلاف در بوته تحت تأثیر برهمکنش کود شروع نیتروژن و برادی‌ریزوبیوم و همچنین برهمکنش برادی ریزوبیوم و مایکوریزا و اثر اصلی هر سه عامل بررسی شد (جدول ۲). کاربرد ۳۰ کیلوگرم نیتروژن و تلقیح برادی‌ریزوبیوم نسبت به عدم کاربرد کود شروع و بدون تلقیح برادی‌ریزوبیوم، افزایش ۲۲ درصدی شمار غلاف در بوته را در پی داشت که البته تفاوت معنی‌داری با کاربرد ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در شرایط وجود برادی‌ریزوبیوم نداشت (شکل ۱). در یک بررسی بیشترین شمار غلاف در بوتهٔ لوبیا از کاربرد ۷۵ کیلوگرم نیتروژن و تلقیح ریزوبیوم به دست آمد و کمترین شمار غلاف در بوته از عدم کاربرد نیتروژن و ریزوبین به دست آمد (Taher khani *et al*., 2007). البته باید خاطرنشان کرد که گیاه لوبیا تثبیت نیتروژن کمتری نسبت به گیاه سویا دارد بنابراین به کود شروع بیشتری نیاز بوده است. در نتایج پژوهش دیگری نیز گزارش شد، تلقیح بذرهای سویا با برادی‌ریزوبیوم اجزای عملکرد سویا از جمله شمار غلاف در بوته را افزایش داد (Rajput *et al*., *2001*). نتایج مقایسهٔ میانگین‌های شمار غلاف در بوته بیانگر اثر مثبت کاربرد همزمان برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا بود. کاربرد همزمان این دو کود زیستی، افزایش ۱۸/۲۵درصدی شمار غلاف در بوته را نسبت به عدم کاربرد آن‌ها در پی داشت (شکل ۲). در حبوبات وجود فسفر کافی نه‌تنها برای رشد گیاه بلکه برای تشکیل غده‌های تثبیت نیتروژن بسیار ضروری است. قارچ‌های مایکوریزا افزون بر افزایش توان ریشه در جذب عنصرهای غذایی پرکاربرد و کم‌کاربرد و افزایش تولید فیتوهورمون‌ها، با بهبود شرایط رشدی و نورساخت گیاه (Ruiz-Sanchez *et al*., 2010) بر فعالیت زیستی ریزوبیوم‌های همزیست با ریشهٔ گیاه نیز تأثیر مثبت و فزاینده‌ای دارند (Erman *et al*., 2011). تأثیر تشدیدکنندگی تلقیح همزمان قارچ‌های مایکوریزا و ریزوبیوم‌ها در گیاهان زراعی مختلفی گزارش شده است (Siviero *et al*., 2008). همچنین این ریز جانداران با افزایش جذب عنصرهای غذایی به‌ویژه فسفر و نیتروژن (Heidari & Karami, 2014; Ryan & Graham, 2002) تولید مواد نورساختی در گیاه را افزایش می‌دهند. بنابراین کاربرد ریزوبیوم و مایکوریزا باعث افزایش شمار غلاف در بوته شد که با نتایج Damavandi *et al*. (2013) روی سویا نیز همسو بود.

شمار دانه در غلاف

تأثیر سطوح مختلف نیتروژن، ریزوبیوم و مایکوریزا بر شمار دانه در غلاف معنی‌دار شد ولی برهمکنش این عامل‌ها بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین شمار دانه در غلاف با کاربرد ۳۰ کیلوگرم نیتروژن شروع با میانگین ۲/۵۸ دانه و کمترین میزان نیز با میانگین ۲/۱۳ دانه در غلاف از عدم کاربرد نیتروژن شروع به دست آمد. به‌احتمال کاربرد بیشتر نیتروژن و فراهمی بالاتر آن برای گیاه سبب تحریک رشد رویشی نسبت به رشد زایشی شده و رقابت حاصل منجر به کاهش شمار دانه در غلاف شده است. تلقیح با برادی‌ریزوبیوم نسبت به نبود تلقیح ۱۸/۰۵درصد و کاربرد مایکوریزا نسبت به عدم کاربرد آن ۹/۳۳ درصد شمار دانه در غلاف‌ها را افزایش دادند (جدول ۳). انشعابات میسیلیومی قارچ‌های میکوریزا می‌توانند به درون خاک و روزنه‌هایی که برای ریشه و تارهای کشندهٔ گیاه در دسترس نیستند، راه یابند و به‌این‌ترتیب از حجم بیشتری از خاک استفاده کنند. این ریز جانداران با فراهم کردن سطح اضافی برای جذب، باعث افزایش جذب عنصرهای غذایی به‌ویژه فسفر (Mohammadi *et al*., 2014) و نیتروژن (Heidari& Karami, 2014) می‌شوند و به‌این‌ترتیب تولید آسیمیلات در گیاه را افزایش می‌دهند. نیتروژن

با شرکت در ترکیب‌های پروتئینی و آمینی افزون بر اهمیت حفاظتی برای برخی آنزیم‌ها و پایداری pH یاخته‌ای، در جابه‌جایی عنصرهای دیگر از راه آوند چوبی نیز اهمیت به سزایی دارد. بنابراین همزیستی گیاه با این ریز جانداران افزایش اجزای عملکرد سویا از جمله شمار دانه در غلاف را در پی داشت. در نتایج یک بررسی گزارش شد، کاربرد ریزوبیوم و مایکوریزا شمار دانه در غلاف و شمار دانه در بوتهٔ لوبیا را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Safa-poor *et al*., 2010).

این در حالی است که Khalequzzaman & Hossain (2007) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، سویه‌های مختلف ریزوبیوم و کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری بر شمار دانه در غلاف نداشتند.



شکل ۲. شمار غلاف در بوتهٔ سویا تحت تأثیر برهمکنش ریزوبیوم در مایکوریزا

Figure 2 . Number of pods /plant of soybean affected by interaction between Rhizobium×Mycorrhiza

وزن هزاردانه

بنا بر نتایج تجزیهٔ واریانس افزون بر تأثیر اصلی برادی ریزوبیوم و مایکوریزا، برهمکنش سه‌جانبهٔ عامل‌های مورد بررسی بر وزن هزاردانهٔ سویا معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین وزن هزاردانه از ترکیب تیماری ریزوبیوم + میکوریزا و عدم کاربرد نیتروژن (۱۸۰/۶۳ گرم) به دست آمد که نسبت به عدم کاربرد کودهای زیستی در شرایط نبود کود شروع ۱۲/۶ درصد افزایش داشت (جدول ۴). کاربرد همزمان ریزوبیوم و مایکوریزا در همهٔ سطوح کودی تأثیر بیشتری نسبت به کاربرد منفرد آن‌ها داشت. هرچند در سطح کودی ۳۰ کیلوگرم در هکتار، کاربرد ریزوبیوم به‌تنهایی نیز وزن هزاردانهٔ بالایی تولید کرد. افزایش کاربرد نیتروژن نیز از ۳۰ به ۶۰ کیلوگرم با کاهش وزن خشک دانه همراه بود (جدول ۴). در بررسی تأثیر کود نیتروژن و تلقیح برادی‌ریزوبیوم بر رقم‌های مختلف سویا گزارش شده است که تلقیح با ریزوبیوم نسبت به کاربرد کود شیمیایی وزن دانه و عملکرد دانه بیشتری تولید کرد (Sogut, 2006). از سویی برای به بیشینه رساندن ظرفیت تولید در سویا، کاربرد نیتروژن شروع از راه کودهای شیمیایی ضروری است (Dakora, 2003). در این تحقیق نیز کاربرد کود شروع (starter fertilizer) تا ۳۰ کیلوگرم تأثیر مثبتی بر وزن خشک دانه‌ها داشت ولی کاربرد نیتروژن بیشتر باعث کاهش وزن هزاردانه شد که اثر بازدارندهٔ نیتروژن محیط بر همزیستی گیاه با ریزوبیوم را تأیید می‌کند که با نتایج Walley *et al*. (2005) و Hemmati & Asadi Rahmani (2004) نیز همسو است.

عملکرد دانه

عملکرد دانه تحت تأثیر همهٔ اثرگذاری‌های ساده و برهمکنش آن‌ها از جمله برهمکنش سه‌گانهٔ کود نیتروژن، برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا قرار گرفت (جدول ۲). با توجه به جدول ۴ مشاهده می‌شود که کاربرد همزمان ریزوبیوم و مایکوریزا در سطح کودی۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بیشترین عملکرد دانه (۵۱۱/۶۷ گرم در مترمربع) را تولید کرد که نسبت به تیمار ۶۰ کیلوگرم نیتروژن + ریزوبیوم و مایکوریزا ۱۹/۷۵ درصد و نسبت به ترکیب تیماری عدم کاربرد نیتروژن + ریزوبیوم و مایکوریزا ۳۹/۳۳ درصد افزایش داشت (جدول ۴).

نکتهٔ دیگر اینکه در سطح ۰ و ۳۰ کیلوگرم نیتروژن شروع، کاربرد مایکوریزا به‌تنهایی نیز عملکردی در سطح آماری ترکیب مایکوریزا و برادی ریزوبیوم تولید کرده است که این مسئله گویای نقش مهم مایکوریزا در بهبود جذب عنصرهای غذایی به‌ویژه نیتروژن و فسفر است (Ryan & Graham, 2002). گزارش‌ها گویای آن است که کاربرد نیتروژن تا پیش از برقراری

رابطهٔ همزیستی گیاه با ریزوبیوم به‌عنوان کود شروع برای گیاه ضرورت دارد (Starling *et al*., 1998) اما کاربرد زیاد نیتروژن با کاهش فعالیت زیستی ریشه باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود (El-Shaarawi *et al*., 2011; Shiri Janagard & Raei, 2014).

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین صفات مورد بررسی تحت تأثیر برهمکنش نیتروژن، برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا

Table 4. Mean comparison of studied traits of soybean affected by interaction between nitrogen, bradyrhizobium and mycorrhiza

Studied factors			Height (cm)	1000 seed weight (g)	Seed yield (g m $^{-2}$)	Biological yield (g m $^{-2}$)
N1	B_1	M_1	67.67 ^{cd}	180.63 ^{a}	367.23 ^{ed}	1049.6 ^{c}
		M_2	58.33 ^{fg}	160.97 ^{cdef}	321.12 ^{fg}	915.52 ^{d}
	B_2	M_1	62.16 ^{ef}	159.08 ^{ef}	341.49 ^{def}	901.81 ^{d}
		M_2	53.83 ^{g}	154.14 ^{f}	290.32 ^{g}	862.2 ^{d}
N2	B_1	M_1	78.33 ^{ab}	175.66 ^{ab}	511.67 ^{a}	1223.16 ^{a}
		M_2	73.16 ^{b}	178.28 ^{ab}	445.48 ^{c}	1119.04 ^{bc}
	B_2	M_1	73.5 ^{b}	175.24 ^{abc}	495.15 ^{ab}	1204.45 ^{ab}
		M_2	57.66 f^{g}	155.57 ^{f}	301.17 f^{g}	884.73 ^{d}
N3	B_1	M_1	77.33 ^{ab}	174.67 ^{abcd}	427.25 ^{c}	1126.73 ^{abc}
		M_2	80.83 ^{a}	170.2 ^{abcd}	451.37 ^{bc}	1147.95 ^{abc}
	B_2	M_1	73 ^{bc}	165.21 ^{bcdef}	377.78 ^{d}	916.41 ^{c}
		M_2	64.16 ^{de}	160.35 ^{cdef}	330.12 ^{efg}	904.48 ^{c}

N1: 0, N2: 30 and N3:60 kg ha^{-1} starter nitrogen fertilizer, B1: Bradyrhizobium, B2: No Bradyrhizobium, M1: Mycorrhiza and M2: No Mycorrhiza

Means in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level (LSD).

البته باید خاطرنشان کرد، در عدم کاربرد کود شروع، تلقیح و بدون تلقیح سویا با برادی ریزوبیوم در یک گروه آماری قرار داشتند که این ممکن است گویای ضرورت کاربرد کود شروع نیتروژن باشد. نتایج این پژوهش گویای آن است که در همهٔ سطوح کود نیتروژنی، برهمکنش برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا عملکرد دانهٔ سویا را نسبت به عدم کاربرد آن‌ها افزایش داد. درواقع برقراری یک رابطهٔ همزیستی سه‌جانبه بین گیاه، ریزوبیوم و مایکوریزا موجب بهبود رشد و عملکرد گیاه شد. قارچ‌های مایکوریزا با افزایش جذب عنصرهای غذایی، بهبود شرایط رطوبتی گیاه، افزایش نورساخت و افزایش غلظت هورمون‌های گیاهی (Ryan & Graham, 2002; Cardoso & Kuyper, 2006) تأثیر مثبتی بر همزیستی گیاه با ریزوبیوم دارد.

بر پایهٔ یافته‌های Zimmera *et al*. (2016) تلقیح بذرهای سویا با ریزوبیوم موجب افزایش ۵۷ درصدی عملکرد دانه شد. در بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر گره‌زایی و عملکرد سویا گزارش شد که این باکتری‌ها با افزایش گره‌زایی و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، عملکرد دانه را افزایش دادند. این محققان بیان کردند، تأثیر این باکتری‌ها به همراه ۳۳ درصد کوددهی شیمیایی تحت کاربرد ریزوبیوم تأثیر بیشتری بر عملکرد گیاه داشت و در تیمار ۱۰۰ درصد کوددهی+ ریزوبیوم، عملکرد کاهش یافت (Shiri Janagard *et al*., 2013).

نتایج این پژوهش با اظهارنظرهای Erman *et al*. (2011) و Garg & Chandel (2011) مبنی بر تأثیر مثبت کاربرد همزمان ریزوبیوم و مایکوریزا در نخود نیز همخوانی دارد.

عملکرد زیست‌توده

همهٔ اثرگذاری‌های اصلی و برهمکنش‌ها به‌جز برهمکنش برادی‌ریزوبیوم بر عملکرد زیست‌تودهٔ سویا معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین عملکرد زیست‌تودهٔ گیاه از ترکیب تیماری ۳۰ کیلوگرم نیتروژن + تلقیح ریزوبیوم + کاربرد مایکوریزا به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد عدم کاربرد مایکوریزا و ریزوبیوم و سطح کودی صفر نیتروژن) ۴۱/۸۶ درصد افزایش عملکرد زیست‌تودهٔ گیاه را در پی داشت (جدول ۴). نتایج به‌روشنی تشدید تأثیر مایکوریزا و ریزوبیوم در کاربرد

همزمان را به‌ویژه در شرایط عدم کاربرد نیتروژن تأیید می‌کند که با یافته‌های Damavandi *et al.* (2013) روی لوبیا همخوانی داشت.

کاربرد زیاد نیتروژن باعث کاهش عملکرد زیست‌تودهٔ گیاه شد که علت این امر را می‌توان به تأثیر منفی مقادیر بالای نیتروژن بر همزیستی گیاه با ریز جانداران از جمله برادی ریزوبیوم دانست. وجود نیتروژن کافی به‌عنوان کود شروع در حضور ریزوبیوم باعث تقویت رشد و افزایش عملکرد گیاه می‌شود (Starling *et al.*, 1979) ولی در مقادیر بالای نیتروژن به دلیل تأثیر سوء بر فعالیت باکتری ریزوبیوم و کاهش تولید آنزیم‌های تثبیت نیتروژن، عملکرد گیاه کاهش می‌یابد (Taher khani *et al.*, 2007).

شاخص برداشت

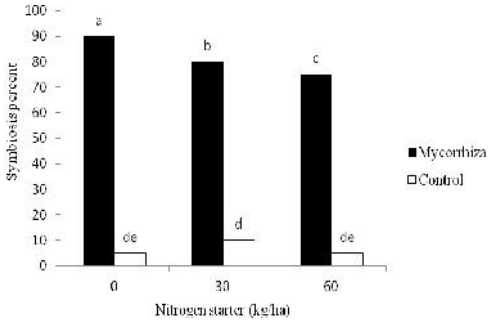
شاخص برداشت بیانگر چگونگی تسهیم مواد پرورده بین اندام‌های رویشی گیاه و دانه است. سطوح مختلف کود شروع نیتروژن، تلقیح برادی ریزوبیوم و کاربرد مایکوریزا تأثیر معنی‌داری بر شاخص برداشت سویا داشتند (جدول ۲). کاربرد ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیشترین شاخص برداشت را داشت که با کاربرد ۶۰ کیلوگرم نیتروژن تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۳).

همچنین تلقیح بذرهای سویا با برادی ریزوبیوم و کاربرد مایکوریزا به ترتیب ۹ و ۷ درصد شاخص برداشت سویا را افزایش دادند (جدول ۳). به‌احتمال علت این امر می‌تواند تأثیر هورمونی مستقیم و یا غیرمستقیم این ریز جانداران بر گیاه (Dakora, 2003) و همچنین تأثیر مثبت آن‌ها در افزایش عملکرد دانه باشد که باعث افزایش شاخص برداشت گیاه شده است. بنا بر نتایج Khalili (2014) کاربرد مایکوریزا و برادی ریزوبیوم افزایش شاخص برداشت سویا را در پی داشت.

در تحقیق دیگری Safa-poor *et al.* (2010) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، اثر متقابل مایکوریزا و برادی ریزوبیوم با افزایش عملکرد دانه سویا، شاخص برداشت این گیاه را افزایش داد.

درصد پرگنه شدن قارچ‌ریشه‌ای

نتایج این تحقیق نشان داد، عامل‌های مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر پرگنه شدن گیاه با مایکوریزا داشت. همچنین درصد پرگنه شدن گیاه با مایکوریزا تحت اثر متقابل مایکوریزا و سطوح مختلف نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲). به‌طوری‌که افزایش کاربرد نیتروژن بر پرگنه شدن گیاه با مایکوریزا نیز تأثیر منفی داشت. بیشترین درصد پرگنه شدن از کاربرد مایکوریزا و سطح کودی صفر مشاهده شد (شکل ۳).



شکل۳. درصد پرگنه شدن مایکوریزا تحت تأثیر برهمکنش نیتروژن و مایکوریزا

Figure 3. Percent of mycorrhiza symbiosis affected by interaction between Nitrogen and Mycorrhiza

در رابطه با سازوکار تأثیر نیتروژن محیط بر همزیستی مایکوریزا اطلاعات اندکی وجود دارد، اما تحقیقات نشان داده است، هرگاه گیاه روزانه با بیش از ۱۰۰ قسمت در میلیون نیتروژن به‌صورت مخلوط آمونیوم و نیترات تغذیه شود، از همزیستی مایکوریزا با گیاه جلوگیری می‌کند (Seyyedi & Mir sharifi, 2013). هرچند در این تحقیق برهمکنش بین برادی-ریزوبیوم و مایکوریزا مشاهده نشد (جدول ۲) ولی Khalili (2014) گزارش کرد که بیشترین درصد همزیستی قارچ مایکوریزا در کاربرد همزمان با برادی ریزوبیوم به دست آمد؛ که به‌طور معنی‌داری بالاتر از کاربرد کود زیستی مایکوریزا به‌تنهایی بود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد، عملکردهای دانه و زیست‌توده و وزن هزاردانه سویا به‌طور معنی‌داری

تحت تأثیر برهمکنش نیتروژن شروع، برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا قرار گرفتند. در همهٔ سطوح کاربردی نیتروژن، کاربرد مایکوریزا و برادی‌ریزوبیوم باعث افزایش عملکرد سویا شدند.

کاربرد نیتروژن مکمل تا ۳۰ کیلوگرم در هکتار، اثر مثبتی بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا داشت؛ اما کاربرد بیشتر نیتروژن شروع (۶۰ کیلوگرم در هکتار) در حضور برادی ریزوبیوم و مایکوریزا منجر به کاهش عملکرد و وزن هزاردانهٔ سویا شد. تلقیح بذرهای سویا با برادی ریزوبیوم و کاربرد مایکوریزا شاخص برداشت سویا را افزایش داد. ترکیب تیماری ۳۰ کیلوگرم کود نیتروژن شروع در هکتار به همراه کاربرد همزمان برادی‌ریزوبیوم و مایکوریزا به‌عنوان تیمار برتر قابل توصیه است. بنا بر نتایج این تحقیق، کاربرد مقادیر مناسب کود نیتروژن به‌عنوان شروع به همراه کاربرد همزمان کودهای زیستی در زراعت سویا، ضمن افزایش عملکرد گیاه، کاهش کاربرد کودهای شیمیایی را در پی خواهد داشت.

REFERENCES

1. Ahmad, F., Ahmad, I. & Shakirhan, M. (2005). Indole acetic acid production by indigenous of Azotobacter and *Pesoudomonas fluresence* in the presence and absence of tryptophan, *Turkish Journal of Biology*, 29, 29-34.
2. AL-Karaki, G., McMichael, B. & Zak, J. (2004). Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, 14, 263-269.
3. Allahdadi, I., Shahbazian, N. & Kamkar, B. (2008). Investigation of farmyard manure, mineral nitrogen and diferent bacteria (*Bradyrhizobium japonicum*) inoculation soybean yield (*Glycine max* L.). *Journal of Agricultural Sciences*, 13(1): 181-190. (In Farsi)
4. Cardoso, M. &Kuyper, T.W. (2006). Mycorrhizal and tropical soil fertility. *Agriculture Ecosystem and Environment*, 116, 72-84.
5. Chalk, P. M., Souza, R. D. F., Urquiaga, S., Alves, B. J. R. & Boddey, R. M. (2006). The role of *arbuscular mycorrhiza* in legume symbiotic performance. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2944-2951.
6. Dakora, F. D. (2003). Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. *New Phytology Trust*, 157, 39-49.
7. Damavandi, M., Saboori, H., Biabani, A. & Reyisi, S. (2013). Effect of arbuscular mycorrhiza and *Brady Rhizobium japonicum* under different levels of phosphorus fertilizer on number, node wet weight and dry weight of nitrogen fixing nodules of soybean. In: Proceedings of the 2 th New Issues in Agriculture Conference, 19 December, Islamic Azad University of Saveh, Iran.
8. Elgala, A. M., Ishac, Y. Z., Adbel Monem, M., El-Ghandour, A. A. I., Huang, P. M., Berthelin, J., Bollag, J. M., Megill, W. B. & Page, A. L. (1995). Effect of single and combined inoculation with Azotobacter and Vesicular Arbuscular Mycorrhiza fungi on growth and mineral nutrient contents of maize and wheat plants. *Environmental Impact of Soil Component Interaction*, 2, 109-116.
9. El-Shaarawi, A. I., Sabh, A. Z., Abou-Taleb S. M. & Ghoniem, A. E., (2011). Effect of inorganic nitrogen and *Bradyrhizobium japonicum* inoculation on growth and yield of soybean. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 436-447.
10. Erman, M., Demir, S., Ocak, E., Tufenkçi, Ş., Oguz, F. & Akkopru, A. (2011). Effects of Rhizobium, arbuscular mycorrhiza and whey applications on some properties in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under irrigated and rainfed conditions. *Field Crops Research*, 122(1), 14-24.
11. Garg, N. & Chandel, S. (2011). Effect of mycorrhizal inoculation on growth, nitrogen fixation and nutrient uptake in *Cicer arietinum* under salt stress. *Turkish Journal of Agriculture*, 4, 1-35.
12. Heidari, M. & Karami, V. (2014). Effects of different mycorrhiza species on grain yield, nutrient uptake and oil content of sunflower under water stress. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13(1), 9-13.
13. Hemmati, A. & Asadi Rahmani, H. (2004). Study of application of nitrogen and nitrogen-fixing bacteria strains on yield of common bean. In: Proceedings of the 8th Iranian Crop Sciences and plant breeding Congress, 24-26 August, Faculty of Agriculture, University of Gilan, Iran. pp. 465.
14. Khaje-Pour, M. R. (2006). *Industrial Crops*. Jahad Academic Publications, Esfahan Industrial University. (In Farsi)
15. Khalequzzaman, K. M. & Hossain, I. (2007). Effect of seed treatment with rhizobium strains and biofertilizers on foot/ root rot and yield of bushbean in *fusarium solani* infested soil. *Journal of agriculture research*, 45(2), 151-160.

16. Khalili, M. (2014). *Effect of irrigation intervals and biofertilizers on water use efficiency, agronomic and qualitative characteristics of soybean (Glycin max L.) in Hamedan*. M. Sc. Thesis in Agronomy, Bu-Ali Sina University of Hamedan. (In Farsi)
17. Majnoon Hosseini, N. (1997). *Beans in Iran*. Jahad Academic Publications, University of Mashhad. (In Farsi)
18. Mikhaeel, F. T., Estefanous, A. N. & Antoun, G. G. (1997). Response of mycorrhizal inoculation and organic fertilization. *Bulletin of Faculty Agriculture-University of Cairo*, 48, 175-186.
19. Mohammadi, E., Asghari, H. & Gholami, A. (2014). Evaluation the possibility of utilization of bio fertilizer mycorrhiza in phosphorus supply in Chickpea cultivation (*Cicer arietinum* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11(4): 658-665. (In Farsi)
20. Ortas. I. (2004). The effect of Mycorrhizal inoculation on forage and non-forage plant growth and nutrient uptake under field conditions. *Options Mediterranéennes*, 79, 459-470.
21. Philips, J.& Hayman, D.S. (1980). Improved procedure for cleaning roots and staining parasitic and Vesicular arbuscular parasitic and Vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
22. Rajput, L. S., Ansari, A. H., Usmani-Khail, M. U., Oad, F. C. & Oad, N. L. (2001). Vegetative growth, yield components and seed yield response of inoculated and un-inoculated soybean regard to fertility regimes. *Journal of Applied Science*, 1, 379-382.
23. Ruiz-Sanchez, M., Aroca, R., Munoz, Y., Polon, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2010). The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. *Journal of plant physiology*, 167(11), 862-869.
24. Ryan, M. H. & Graham, J. H. (2002). Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture. *Plant and soil*, 24: 263-271.
25. Safa-poor, M., Ardakani, M. R., Rejali, F., Khaghani, Sh. & Teymuri M. (2010). Interaction between mycorrhiza and rhizobium on yield of three varieties of *Phaseolus vulgaris* L. *New Findings in Agriculture Journal*. 5(1), 22-25.
26. Saini, V. K., Bhandari, S. C. & Tarafdar, J. C. (2004). Comparison of crop yield, soil microbial C, N and P, N fixation, nodulation and mycorrhizal infection in inoculated and non-inoculated sorghum and chickpea crops. *Field Crops Research*, 89, 39-47.
27. Seyyedi, M. N. & Mir Sharifi, R. (2013). Effect of seed inoculation with rhizobium and nitrogen fertilizer application on yield and agronomic characteristics of soybean in Ardabil. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11(4), 618-626. (In Farsi)
28. Shiri Janagard, M. & Raei, Y. (2014). Effect of growth-promoting bacteria on soybean nodulation and oil and protein yields. *Journal Sustainable Agriculture and Production Science*, 24(1), 69-82. (In Farsi)
29. Shiri Janagard, M., Raei, Y., Gasemi-Golezani, K. & Aliasgarzad, N. (2013). Soybean response to biological and chemical fertilizers. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(3), 261-266.
30. Siviero, M. A., Motta, A. M., Dos Santos Lima, D., Birolli, R. R., Huh, S. Y., Santinoni, I. A., & Nogueira, M. A. (2008). Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. *Applied Soil Ecology*, 39(2), 144-152.
31. Sogut, T. (2006). Rhizobium inoculation improves yield and nitrogen accumulation in soybean (*Glycine max* L.) cultivars better than fertilizer. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34, 115-120.
32. Starling, M. E, Wood, C. W. & Weaver, D. B. (1998). Starter nitrogen and growth habit effects on late-planted soybean. *Agronomy Journal*, 90, 658-662.
33. Taher-khani, M., Nour Mohammadi, Gh., Mir Hadi, S. M. J. & Mohammadi Rahim, A. (2007). Evaluation the ability of biological nitrogen fixation in different bean varieties with using of three types of inoculant containing nitrogen-fixing bacteria. *Agroecology Journal*, 3(7), 79-88. (In Farsi)
34. Walley, F. L., Boahen,S. K., Hnatowich, G. & Stevenson,C. (2005). Nitrogen and phosphorus fertility management for desi and kabuli chickpea. *Canadian Journal of Plant Science*, 85, 73-79.
35. Zarei, I., Sohrabi, Y., Heidari, Gh. R., Jalilian, A. & Mohammadi, Kh. (2012). Effects of biofertilizers on grain yield and protein content of two soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 11(27), 7028- 7037.
36. Zimmera, S., Messmer, M., Haasec, Th., Piepho, H. P., Mindermann, A., Schulz, H., Habekub, A., Ordon, F., Wilbois, K. P. & Heb, J. (2016). Effects of soybean variety and Bradyrhizobium strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in Germany. *European Journal of Agronomy*, 72, 38–46.