

تأثیر کودهای زیستی بر صفات مورفوفیزیولوژیک شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) در شرایط مختلف رطوبتی

شیوا رضازاده روغنی^۱، رقیه امینیان^{۲*}، سودابه مفاخری^۳، بهور اصغری^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی

امام خمینی (ره)، قزوین، ایران. shivarezazadeh.r@gmail.com

۲* - نویسنده مسئول و استادیار گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین،

ایران. aminian@eng.ikiu.ac.ir

۳- استادیار گروه مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

smafakheri@gmail.com

۴- استادیار گروه مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

behvar@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۰

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی در کاهش اثر تنش کم‌آبیاری در شنبلیله، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. عامل اول آبیاری در دو سطح بدون تنش (آبیاری براساس ۱۰۰ درصد ظرفیت خاک) و تنش کم آبیاری (آبیاری براساس ۴۰ درصد ظرفیت خاک) و عامل دوم کود زیستی در سه سطح بدون کود زیستی، استفاده از قارچ میکوریزا و استفاده از عصاره جلبک در نظر گرفته شدند. صفات مورد بررسی شامل میزان سبزی‌نگی، میزان آب نسبی برگ، شاخص پایداری غشاء، وزن تر بوته، عملکرد دانه، تعداد و عرض روزنه‌های برگ، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر آبیاری برای تمام صفات مورد بررسی به‌جز تعداد روزنه معنی‌دار بود. همچنین اثر کود زیستی نیز برای تمام صفات و اثر متقابل آبیاری و کود زیستی برای اکثر صفات به‌جز میزان آب نسبی برگ معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد دانه و وزن تر بوته به ترتیب به میزان ۴/۵۵ گرم در بوته و ۱۸/۰۶ گرم، در شرایط بدون تنش و با استفاده از کود میکوریزا حاصل شد. استفاده از کود میکوریزا در شرایط تنش سبب بهبود اکثر صفات در مقایسه با عدم استفاده از کود زیستی شد. نتایج رگرسیون گام‌به‌گام نشان داد که تعداد دانه در غلاف در شرایط تنش و بدون تنش بیشترین اثر را بر عملکرد دانه داشت در حالی که تعداد روزنه‌ها در شرایط بدون تنش و تعداد و عرض روزنه‌ها در شرایط تنش بیشترین اثر را بر وزن تر بوته داشتند. در نتیجه از صفات تعداد دانه در غلاف، تعداد روزنه و عرض روزنه برای بهبود عملکرد دانه و وزن تر شنبلیله می‌توان استفاده کرد. واژگان کلیدی: تنش، رگرسیون گام‌به‌گام، عصاره جلبک، میکوریزا

مقدمه

شنبليله با نام علمی *Trigonella foenum-graecum* L. گیاهی علفی و یک ساله از خانواده Fabaceae است. گیاه شنبليله در تمام استان‌های ایران کشت می‌شود و تولید سالانه پیکر رویشی آن ۸۰۰ تن و عملکرد دانه آن ۰/۸ تن در هکتار گزارش شده است (Sadeghzadeh-Ahari *et al.*, 2010). خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است (امیدی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Abedi and Pakniyat, 2010). در اغلب مناطق کشور، به دلیل محدودیت آب و پراکنش نامناسب بارندگی فقط امکان کشت و کار تعداد معدودی گیاه زراعی و باغی وجود دارد. بی‌شک، معرفی گیاهان جدید برای چنین مناطقی ضمن تنوع‌بخشی به تولید محصولات کشاورزی می‌تواند به پایداری نظام‌های زراعی کمک نماید (پزشک‌پور و موسوی، ۱۳۸۵).

در سال‌های اخیر، افزایش بی‌رویه مصرف کود و مواد شیمیایی در تولید محصولات کشاورزی سلامت خاک، آب، هوا و همچنین محصولات تولیدی را به خطر انداخته و نگرانی‌های روزافزونی را برای محیط زیست جهانی و سلامت بشر به وجود آورده است. در همین راستا، موضوع توسعه کشاورزی پایدار در جهت مقابله با معضلات مذکور در سراسر جهان مطرح و اهمیت زیادی یافته است. بحث تولید محصولات سالم در کشور ما نیز مدتی است که آغاز شده و در چند سال اخیر با توجه بیشتری دنبال می‌شود (جوانرودی، ۱۳۸۹). کودهای زیستی در برخی موارد به عنوان جایگزین و در اکثر موارد به عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید نظام‌های کشاورزی را تضمین نمایند (Han *et al.*, 2006). کودهای زیستی متشکل از میکروارگانیسم‌های مفیدی

هستند که هر یک به‌منظور خاصی مانند تثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم، آهن و غیره تولید می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند (Wu *et al.*, 2005). قارچ‌های میکوریزای وزیکولار - آربوسکولار (Vesicular-Arbuscular) در بین میکروارگانیسم‌هایی که محیط اطراف ریشه را اشغال می‌کنند، منحصر به فرد بوده و با ایجاد رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان زراعی که اصطلاحاً همزیستی میکوریزایی گفته می‌شود، موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی و کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی در گیاهان می‌شوند (Gogoi and Singh, 2011). تأثیر مثبت این قارچ بر کمیت و کیفیت گیاهان مختلف، توسط بسیاری از محققان اعلام شده است (Karagiannidis *et al.*, 2012; Frosi *et al.*, 2017). استفاده از عصاره جلبک-ها، به عنوان کود به قرن نوزده برمی‌گردد. کودهای جلبکی به دلیل میزان فیبر بالا از یک طرف نقش مهمی در نرم کردن بافت خاک، حفظ رطوبت و بهبود ساختمان خاک داشته و از طرف دیگر با داشتن مواد معدنی، عناصر غذایی فراوان، رشد گیاه، مقاومت به آفات و بیماری‌ها و میزان عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند (احمد و شالابی، ۱۳۹۱).

با توجه به اهمیت کشاورزی پایدار، اهمیت زراعت و تولید گیاه دارویی شنبليله و از طرفی کمبود آب آبیاری و نزولات جوی در مناطق مختلف کشور، این آزمایش به‌منظور مطالعه اثر کودهای زیستی میکوریزا و جلبک سبز در کاهش اثرات تنش کم‌آبیاری در گیاه شنبليله از طریق بررسی صفات مرفوفیزیولوژیک و روابط بین این صفات و معرفی مهم‌ترین صفات مؤثر بر عملکرد دانه و

آبیاری (آبیاری براساس ۴۰ درصد ظرفیت زراعی)؛ و عامل دوم کود زیستی در سه سطح؛ بدون کود زیستی، استفاده از قارچ میکوریزا و استفاده از عصاره جلبک، در نظر گرفته شدند. تنش کم آبیاری پس از استقرار گیاهچه‌ها اعمال شد. کاشت به صورت کپه‌ای و در شش نقطه از سطح گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۳۲ سانتی‌متر و قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر صورت گرفت.

بذرهای مورد نیاز برای کشت، از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردیدند. خاک گلدان به نسبت ۳، ۲ و ۱ به ترتیب شامل خاک زراعی، ماسه و کود دامی بود. برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها نمونه‌ای از خاک تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ ارائه گردیده است.

وزن تر آن تحت شرایط بدون تنش و تنش کم آبیاری انجام شد. بنابراین علاوه بر بررسی تاثیر کودهای زیستی از نتایج این تحقیق می‌توان در آینده در کارهای پژوهشی و به‌نژادی شنبلیله از طریق به‌نژادی صفات مؤثر بر عملکرد دانه و وزن تر در شرایط محیطی مشابه استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تاثیر کودهای زیستی در کاهش اثر تنش کم آبیاری در شنبلیله، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بین‌الملل امام خمینی (ره) قزوین در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. عامل اول آبیاری در دو سطح، بدون تنش (آبیاری براساس ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش کم-

جدول ۱. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil

واکنش کل اشباع (pH)	درصد مواد خنثی شونده (Percentage of neutralizing agents)	بافت (Soil texture)	درصد رس (Clay) (percentage)	درصد سیلت (Silt percentage)	درصد شن (Sand percentage)
7.37	8	SL	17	21	62
کربن آلی (Organic carbon(%))	درصد ازت کل (Total N (%))	فسفر قابل جذب (P (mg/kg))	پتاسیم قابل جذب (k (mg/kg))	درصد اشباع (Saturation percentage)	هدایت الکتریکی خاک (EC (dS/m))
0.09	0.01	20	480	34	2.6

سانتی‌گراد در طول روز تنظیم گردید. کود میکوریزا با نام تجاری Myco Root از موسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه گردید و در هنگام کاشت به مقدار ۱۰ گرم به ازای هر کپه بذر استفاده شد. کود عصاره جلبک با نام تجاری عصاره جلبک از شرکت تولیدی و صنعتی گیلان

پس از سبز شدن بذرها، تنک کردن گیاهچه‌ها در چند مرحله تا قبل از گلدهی انجام گرفت و درنهایت در هر گلدان ۶ گیاه نگهداری شد. سیستم روشنایی گلخانه به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی (مجموع نور طبیعی و مصنوعی) و ۸ ساعت تاریکی و دمای روزانه ۲۵ درجه

برای تعیین شاخص پایداری غشاء (Membrane Stability Index) دو برگ از وسط گیاه در هر گلدان انتخاب و ۰/۱ گرم از هر نمونه تازه برگی در فالكون‌های حاوی آب مقطر غوطه‌ور گردید. سپس فالكون‌های حاوی نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام بن ماری (مدل WNE 10، شرکت مرک آلمان) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد فالكون‌های حاوی نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و مجدداً هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد و شاخص پایداری غشاء بر اساس رابطه ۲ محاسبه گردید (Azizpour et al., 2010).

$$MSI = 1 - (EC_{40} / EC_{100}) * 100$$

در رابطه بالا شاخص پایداری غشاء (MSI): EC₄₀ هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (براساس واحد دسی‌زیمنس بر متر = ds/m)، EC₁₀₀ هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد (براساس واحد واحد دسی‌زیمنس بر متر = ds/m).

عرض و تعداد روزنه سطح برگ در مرحله آغاز گلدهی اندازه‌گیری شد، به این ترتیب که مقداری لاک شفاف، روی سطوح رویی برگ‌ها مالیده شد و پس از خشک شدن به وسیله چسب شیشه‌ای با دقت از سطح برگ جدا و برای انجام بررسی‌های میکروسکوپی به آزمایشگاه منتقل گردیدند (نظری و عبدالشاهی، ۱۳۹۲). در مطالعه میکروسکوپی به‌منظور بررسی خصوصیات روزنه‌ها ۵ میدان دید به‌طور تصادفی تعیین شد و سپس در هر میدان دید تعداد روزنه‌ها به‌دقت شمارش گردید؛ میانگین تعداد روزنه در واحد میدان دید بدست آمد. سپس تعداد ۵ روزنه به صورت تصادفی انتخاب و عرض آن‌ها با استفاده

زاك به نسبت يك در هزار در دو مرحله (اوایل فصل رشد و پس از تشکیل میوه) به همراه آب آبیاری برای هر گلدان استفاده شد. مقادیر کودهای استفاده‌شده بر اساس دستورالعمل شرکت تهیه‌کننده کود و با توجه به تحقیقات قبلی در نظر گرفته شدند.

صفات اندازه‌گیری شده شامل میزان سبزیگی (کلروفیل)، میزان آب نسبی برگ، شاخص پایداری غشاء، وزن تر بوته، عملکرد دانه، تعداد و عرض روزنه‌های سطح فوقانی برگ، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف بودند. میزان سبزیگی با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (SPAD، مدل ۵۰۲، شرکت Minolta ژاپن) پس از تشکیل میوه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان آب نسبی برگ (Relative Water Content; RWC) از هر گلدان ۶ نمونه برگی در مرحله آغاز گلدهی، به‌طور تصادفی جدا شد و بلافاصله وزن تر (FW) با ترازوی دقیق دیجیتالی اندازه‌گیری شد. نمونه‌های وزن شده به مدت ۶ ساعت درون آب مقطر قرار گرفتند تا به حالت آماس برسند؛ سپس با استفاده از یک پارچه بدون اعمال هیچ گونه فشاری، رطوبت سطح نمونه گرفته شده و نمونه‌ها توزین گردیدند تا وزن آماس (TW) به‌دست آید. به‌منظور به دست آوردن وزن خشک (DW) نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و مجدداً وزن شدند. با استفاده از رابطه ۱ میزان آب نسبی برگ برحسب درصد محاسبه گردید (Gunes et al., 2008).

$$RWC\% = [(FW - DW) / (TW - DW)] * 100$$

FW = وزن تر برگ، DW = وزن خشک برگ، TW = وزن اشباع برگ

از ۱۷/۴ درصد کاهش نسبت به شرایط تنش و عدم استفاده از کود زیستی (۳۸/۴) بود. تنش خشکی باعث کاهش مقدار کلروفیل در تیمار بدون استفاده از کود زیستی و استفاده از عصاره جلبک شد، در حالی که استفاده از کود میکوریزا سبب جلوگیری از کاهش مقدار کلروفیل در شرایط تنش شد. قارچ‌های میکوریزا توانایی گیاهان در به دست آوردن آب و مواد مغذی به ویژه عناصر کم تحرک مانند فسفر را افزایش می دهند، باعث رشد گیاهان شده و مقاومت گیاه را در برابر تنش های محیطی بهبود می بخشد (Schubler et al, 2001). علاوه بر این، گزارش شده است که این قارچ‌ها تحت شرایط تنش خشکی با افزایش تعرق، کاهش دمای برگ و کاهش تجزیه محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی اثر سوء تنش را تعدیل می کنند (Abbaspour et al., 2012). کاهش محتوای کلروفیل در هنگام مواجهه با تنش خشکی، در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون چربی و تخریب کلروفیل بوده است (Xiao et al., 2008). در مطالعه روی گیاه سویا مشاهده شد، مقدار کلروفیل با افزایش تنش کاهش می یابد (پاک‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۱). با این حال در پژوهشی بر گیاه گندم، تنش خشکی باعث بیشتر شدن مقدار کلروفیل برگ پرچم در مرحله گلدهی در مقایسه با شرایط بدون تنش گردید (Ommen and Donnelly, 1999) در توجیه وجود تناقض بین این نتایج می توان گفت که زمان نمونه برداری و نحوه اعمال تنش در پاسخ گیاه بسیار مهم است، به طوری که اگر نمونه برداری در زمان حداکثر مقدار کلروفیل برگ انجام شود، نتیجه متفاوتی خواهد داشت (احمدی و سی و سه مرده، ۱۳۸۳). معمولا انتظار است که کودهای زیستی باعث افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه شده و در شرایط

از عدسی مدرج اندازه گیری شد. قطر میدان دید با استفاده از اسلاید استاندارد بر مبنای میلی متر اندازه گیری شد و بدین ترتیب امکان تعیین فراوانی روزنه‌ها در سطوح فوقانی برگ در هر میلی متر مربع فراهم گردید (امینیان و همکاران، ۱۳۹۱). برای اندازه گیری وزن تر، سه بوته در هر گلدان قبل از گلدهی کف‌بر گردیدند و پس از وزن شدن میانگین وزن تر هر بوته بدست آمد. پس از رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد غلاف‌ها در هر بوته به صورت دستی شمارش گردید و میانگین تعداد غلاف در بوته محاسبه شد. بذره‌های هر گلدان که توسط دستگاه شمارشگر بذر شمارش شد بر تعداد غلاف هر گلدان تقسیم و عدد نهایی برای صفت تعداد بذر در غلاف بدست آمد.

نتایج و بحث

مقدار سبزیگی (کلروفیل)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر آبیاری و کود زیستی در سطح احتمال یک درصد بر صفت مقدار کلروفیل معنی دار بود، و همچنین اثر متقابل دوگانه آبیاری \times کود زیستی در سطح احتمال پنج درصد برای صفت مقدار کلروفیل معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری \times کود زیستی (جدول ۴) نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل در تیمار بدون تنش و استفاده از کود میکوریزا بود (۴۲/۴۷) که با تیمار تنش و استفاده از کود میکوریزا (۴۱/۸۳) و تیمار بدون تنش و عدم استفاده از کود زیستی (۴۰/۸۷) در یک گروه آماری قرار گرفت. کمترین مقدار کلروفیل در شرایط تنش و استفاده از عصاره جلبک مشاهده شد، که این مقدار (۳۱/۷) دارای

شاخص در گزینش برای تحمل به خشکی به کار می‌رود (کریمی و باقی زاده، ۱۳۹۴). عصاره جلبک سبز باعث بهبود رشد و توسعه ریشه و ایجاد تعادل بین میزان تعرق و محتوای آب سلول‌های برگ می‌شود (et al., 2009) (Khan)

شاخص پایداری غشاء

اثر آبیاری و کود زیستی و اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی در سطح احتمال یک درصد بر صفت شاخص پایداری غشاء معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × کود زیستی (جدول ۴) نشان داد که بیشترین شاخص پایداری غشاء در شرایط بدون تنش و استفاده از عصاره جلبک سبز (۸۶/۲۹ درصد) و کمترین مقدار شاخص پایداری غشاء در شرایط تنش و عدم استفاده از کود زیستی (۵۱/۰۵ درصد) حاصل گردید. استفاده از کودهای زیستی در هر دو شرایط بدون تنش و تنش سبب افزایش شاخص پایداری غشاء نسبت به شرایط عدم استفاده از کود زیستی شد. در شرایط تنش، شاخص پایداری غشاء به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تنش کاهش پیدا کرد. بررسی پایداری غشاء سلولی در شرایط تنش خشکی به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک ارزشمند جهت ارزیابی میزان مقاومت به خشکی کاربرد دارد. در پژوهشی روی نخود مشاهده شد که تنش خشکی تأثیر به‌سزایی در کاهش پایداری غشاء سلولی داشت. تنش خشکی باعث افزایش مقادیر اشکال مختلف اکسیژن فعال و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو، تخریب دیواره سلولی و کاهش پایداری غشاء سلولی در گیاه نخود گردید (Bahavar et al., 2009). در شرایط تنش تجمع بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال در سلول-

تنش از تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی جلوگیری کنند. در این بررسی نیز در زمان اندازه‌گیری مقدار کلروفیل تاثیر مثبت کود میکوریزا مشاهده شده است، اما در توجیه مشاهده نتیجه مناقض برای تیمار عصاره جلبک می‌توان گفت با توجه به اینکه اثر این تیمار بر اکثر صفات مورد بررسی مثبت بوده و هم در شرایط تنش و هم در شرایط بدون تنش گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک از مقادیر بالاتر عملکرد دانه و وزن تر در مقایسه با گیاهان شاهد برخوردار بوده‌اند (جدول ۴)، پس می‌توان بیان داشت که اثر عصاره جلبک بر فتوسنتز منفی نبوده است، ولی در زمان اندازه‌گیری کلروفیل گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک از مقدار کلروفیل کمتری در واحد سطح برخوردار بودند.

میزان آب نسبی برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر آبیاری و کود زیستی در سطح احتمال یک درصد بر صفت میزان آب نسبی برگ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی برای این صفت معنی‌دار نشد. در تیمار آبیاری، بیشترین میزان آب نسبی برگ در شرایط بدون تنش (۸۵/۴۴ درصد) و در تیمار کود زیستی بیشترین مقدار این صفت در استفاده از عصاره جلبک سبز (۸۵/۹۲ درصد) مشاهده شد (جدول ۳). کاهش محتوای آب نسبی و بسته شدن روزنه‌ها اولین تأثیر تنش خشکی است که از طریق اختلال در سیستم ساخت مواد فتوسنتزی موجب کاهش میزان عملکرد می‌شود. کاهش محتوای آب نسبی با بیشتر شدن شدت تنش گزارش شده است (پاک‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۴). میزان آب نسبی برگ به عنوان یک

های گیاهی باعث آسیب‌های غشایی و پراکسیداسیون لیپیدها شده و این تغییر سبب از دست رفتن خاصیت نیمه تراوایی غشاء می‌شود. در نتیجه پایداری غشاء کاهش می‌یابد و نشت الکترولیت‌ها از غشاء افزایش می‌یابد. بنابراین کودهای زیستی از طریق افزایش پایداری غشاء باعث مقاومت گیاه در شرایط تنش می‌شوند.

وزن تر بوته

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر آبیاری و کود زیستی در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی در سطح احتمال پنج درصد برای صفت وزن تر بوته معنی‌دار شد. مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × کود زیستی (جدول ۴) نشان داد که بیشترین میزان وزن تر بوته در شرایط بدون تنش و استفاده از کود میکوریزا (۱۸/۰۶ گرم)، و کمترین وزن تر بوته در شرایط تنش و عدم استفاده از کود زیستی (۴/۷۸ گرم) حاصل شد. در شرایط تنش و بدون تنش استفاده کردن از کودهای زیستی نسبت به حالت استفاده نکردن از کود زیستی سبب افزایش صفت وزن تر بوته شد. به نظر می‌رسد که رشد کم، یک حالت سازگارکننده برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است، به این دلیل که گیاه مواد غذایی و انرژی را به جای استفاده در رشد شاخساره و ریشه، به سمت مولکول‌های نگهدارنده در برابر تنش هدایت می‌کند (Khalid, 2006).

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر آبیاری و کود زیستی و اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی در

سطح احتمال یک درصد بر صفت عملکرد دانه معنی‌دار شد. مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × کود زیستی (جدول ۴) نشان داد که بیشترین عملکرد دانه (۴/۵۵ گرم در بوته) در شرایط بدون تنش و استفاده از کود میکوریزا و کمترین مقدار عملکرد دانه (۰/۸۷ گرم در بوته) در شرایط تنش و عدم استفاده از کود زیستی مشاهده شد. در شرایط تنش استفاده از کود زیستی سبب افزایش عملکرد دانه نسبت به حالت عدم استفاده از کود زیستی شد (۲/۳۸ و ۱/۴۴ گرم در بوته به ترتیب برای میکوریزا و جلبک سبز). کاهش عملکرد دانه و اجزای آن در شرایط تنش کم‌آبی نسبت به آبیاری کامل را می‌توان به کاهش فتوسنتز و ماده سازی در گیاه تحت شرایط تنش نسبت داد. کاهش فتوسنتز خالص و کاهش مواد غذایی انتقال یافته از برگ به دانه از پیامدهای تنش کمبود آب است که باعث کاهش عملکرد دانه می‌شود (جلیلیان و حیدرزاده، ۱۳۹۶). قارچ‌های میکوریزا جذب آب و مواد غذایی را در گیاه افزایش می‌دهند، باعث بهبود رشد گیاه شده و مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های محیطی بهبود می‌بخشند. (Schübler et al, 2001; Cherif et al., 2015) همچنین در شرایط تنش تجزیه رنگدانه‌های فتوسنتزی را کاهش می‌دهند. (Abbaspour et al., 2012). بنابراین استفاده از این قارچ‌ها سبب افزایش عملکرد دانه می‌شود.

تعداد و عرض روزنه‌های سطح فوقانی برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که برای صفت تعداد روزنه‌های سطح فوقانی برگ فقط اثر اصلی کود زیستی و برای صفت عرض روزنه‌های سطح فوقانی برگ اثر اصلی آبیاری و اثر اصلی کود زیستی در سطح احتمال

(2004, *al.* در این مطالعه گیاهانی که با کود میکوریزا تیمار شده بودند در مقایسه با گیاهان شاهد بدون کود زیستی و گیاهانی که با عصاره جلبک تیمار شده بودند دارای تعداد و عرض روزه بیشتر بودند (جدول ۳)، از طرفی همانطور که در جدول ۴ مشخص است میزان آب نسبی گیاهان تیمار شده با کود میکوریزا تفاوت معنی‌داری با شاهد ندارد. همچنین این گیاهان دارای شاخص کلروفیل، وزن تر و عملکرد دانه بیشتری در مقایسه با گیاهان شاهد و تیمار شده با عصاره جلبک می‌باشند. به عبارتی کود میکوریزا در مقایسه با عصاره جلبک و عدم استفاده از کود زیستی از طریق افزایش تعداد و اندازه روزه منجر به افزایش راندمان فتوسنتز و عملکرد دانه و پیکر رویشی گیاه گردید.

تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر آبیاری، اثر کود زیستی و اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی در سطح احتمال یک درصد برای صفات تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی (جدول ۴) نشان داد که بیشترین تعداد غلاف (۱۹/۶۷) و تعداد دانه در غلاف (۱۴/۶۹) در شرایط بدون تنش و استفاده از کود میکوریزا بود و کمترین تعداد غلاف (۹/۸۳) و تعداد دانه در غلاف (۷/۴۹) در شرایط تنش و عدم استفاده از کود زیستی مشاهده شد. تعداد دانه در گیاه و تعداد غلاف، دو صفت بسیار مهم و از اجزای اصلی عملکرد هستند که رابطه مستقیم و شدیدی با مقدار رطوبت خاک دارند (Ryan, 1997). در پژوهش دیگری تنش خشکی فاصله

یک درصد معنی‌دار شدند. اثر متقابل دوگانه آبیاری × کود زیستی برای این دو صفت معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثر اصلی کود زیستی نشان داد که بیشترین تعداد روزه (۱۱۴/۰۳) عدد در یک میلی متر مربع) در شرایط استفاده از کود میکوریزا مشاهده شد. در مقایسه میانگین اثر اصلی آبیاری برای صفت عرض روزه سطح رویی برگ مشخص شد که بیشترین میانگین عرض روزه در شرایط بدون تنش وجود دارد (۰/۴۴ میکرومتر)، و در بررسی اثر اصلی کود زیستی بیشترین مقدار عرض روزه سطح رویی در شرایط استفاده از کود میکوریزا مشاهده شد (جدول ۳). یکی از راه‌کارهای پیش‌گیری از صدمات ناشی از کمبود آب در گیاهان بستن روزه‌ها می‌باشد (Pastenes *et al.*, 2005). تنش خشکی باعث بسته شدن روزه‌ها می‌شود (Yu *et al.*, 2004). هم‌زیستی میکوریزا باعث افزایش حساسیت روزه‌ها به رطوبت هوا، افزایش هدایت روزه‌ها و میزان تعرق، افزایش سرعت فتوسنتز و تعویق افت پتانسیل آب برگ می‌شود (Gogala, 1991). روزه‌ها نقش مهمی را در کنترل تعرق، فتوسنتز و تبادلات گازی برعهده دارند. تعداد روزه‌ها در واحد سطح و اندازه آنها نقش بسیار مهمی در تبادلات گازی گیاه دارد، اما مشکلی که در برنامه‌های به‌نژادی فراوانی و اندازه روزه‌ها وجود دارد این است که روزه‌ها ورودی اصلی گیاه هستند، اگر انتخاب در جهت کوچک بودن، کمتر بودن دوره و کم باز شدن روزه‌ها صورت گیرد، علاوه بر کاهش تلفات آب، فتوسنتز و راندمان مصرف آب نیز کاهش می‌یابد. بنابراین گیاهانی که هدایت روزه‌های خود را به نحوی تعدیل کنند تا مقدار جذب CO₂ مناسب و حداقل از دست رفتن آب را داشته باشند، مطلوب به‌نژادگران خواهند بود (Hetherington and Woodward, 2003; Hyeon-Hye *et*

شیوا رضازاده و همکاران: تاثیر کودهای زیستی بر صفات مورفوفیزیولوژیک شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) ...

جوانه‌زنی با گلدهی، فتوسنتز، پتانسیل آب برگ، سطح برگ، تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف، تعداد و اندازه برگ و در نهایت عملکرد نخود را کاهش داد (Leport *et al.*, 2006). در پژوهش حاضر استفاده از کودهای زیستی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش باعث افزایش تعداد غلاف نسبت به حالت عدم استفاده از کود زیستی شدند. در شرایط بدون تنش استفاده از میکوریزا و عصاره جلبک

به ترتیب باعث افزایش ۷۵ و ۳۹ درصدی تعداد غلاف و افزایش ۱۲ و ۳۹ درصدی تعداد دانه در غلاف نسبت به شاهد بدون کود زیستی شدند. در شرایط تنش نیز استفاده از میکوریزا و عصاره جلبک به ترتیب باعث افزایش ۲۵ و ۳۴ درصدی تعداد غلاف و افزایش ۱۶ و ۳۴ درصدی تعداد دانه در غلاف نسبت به شاهد بدون کود زیستی شدند.

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در شنبلیله

Table 2. Mean-square analysis of variance of studied traits in fenugreek

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	Mean squares میانگین مربعات				
		کلروفیل (Chlorophyll Index)	میزان آب نسبی برگ (Relative Water content)	شاخص پایداری غشاء (Membrane Stability Index)	وزن تر اندام هوایی (Plant Fresh Weight)	عملکرد دانه (grain yield)
Block بلوک	2	0.91 ^{ns}	7.01 ^{ns}	2.44 ^{ns}	0.57 ^{ns}	0.103 ^{ns}
Irrigation آبیاری	1	22.44**	319.34**	3077.61**	33.95**	9.19**
کود زیستی Bio fertilizer	2	118.77**	115.44**	137.49**	160.34**	6.84**
آبیاری* کودزیستی Irrigation* Bio fertilizer	2	3.36*	0.21 ^{ns}	48.85**	3.56*	0.62**
Error خطا	10	0.815	8.25	4.23	0.61	0.06
درصد ضریب تغییرات CV%	-	2.35	3.54	3.08	7.72	10.77

ns, * و ** به ترتیب بیانگر معنی‌دار نبودن، معنی‌دار بودن اختلاف در سطح پنج درصد و معنی‌دار بودن در سطح یک درصد می‌باشند.

ns; Non-significant; * Significant at $P \leq 0.05$, ** Significant at $P \leq 0.01$

ادامه جدول ۲.

Continue Table 2.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	Mean squares میانگین مربعات			
		تعداد روزنه‌ها Number of Stomata	عرض روزنه‌ها Stomata width	تعداد غلاف Number of Pods	تعداد دانه در غلاف Number of Seeds per Pod
Block بلوک	2	5.61 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.54 ^{ns}
Irrigation آبیاری	1	33.36 ^{ns}	0.021**	62.02**	58.39**
کود زیستی Bio fertilizer	2	729.7**	0.003**	46.88**	17.04**
آبیاری* کودزیستی Irrigation* Bio fertilizer	2	13.08 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	15.77**	1.33**
Error خطا	10	25.83	0.0002	0.62	0.14
درصد ضریب تغییرات CV%	-	5	3.71	5.79	3.58

ns, * و ** به ترتیب بیانگر معنی‌دار نبودن، معنی‌دار بودن اختلاف در سطح پنج درصد و معنی‌دار بودن در سطح یک درصد می‌باشند.

Ns; Non-significant; * Significant at $P \leq 0.05$, ** Significant at $P \leq 0.01$

جدول ۳. اثرات اصلی آبیاری و کود زیستی بر صفات مورد مطالعه در شنبلیله

Table 3. Main effect of Irrigation and Bio fertilizer on traits of fenugreek

	میزان آب نسبی برگ (درصد) Relative water content	تعداد روزنه‌ها (Number of Stomata (mm ²))	عرض روزنه‌ها Stomata width (μm)
<i>Irrigation</i> آبیاری			
(۱) آبیاری کامل Full Irrigation	85.44 a	-	0.44 a
(۲) تنش کم آبیاری Low Irrigation Stress	77.01b	-	0.37 b
<i>Bio fertilizer</i> کود زیستی			
(۱) بدون کود (شاهد) Control	77.23b	92.99 b	0.38 c
(۲) کود میکوریزا Mycorrhiza	80.52b	114.03 a	0.43 a
(۳) عصاره جلبک Algae extract	85.92a	97.79 b	0.41 b

در هر عامل میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.
based on LSD test. In each factor, means with the same letters, were not significant at the 5% probability level

جدول ۴. اثرات متقابل آبیاری × کود زیستی بر صفات مورد مطالعه در شنبلله

Table 4. Interaction effects of irrigation × biological fertilizer of studied traits in fenugreek

کود زیستی Bio fertilizer	شاخص کلروفیل Chlorophyll Index		شاخص پایداری غشاء Membrane Stability Index (%)		وزن تر بوته Fresh weight (g)	
	بدون تنش non-stress	تنش stress	بدون تنش non-stress	تنش stress	بدون تنش non-stress	تنش stress
بدون کود Control	40.87 a	38.4 b	71.52 c	51.05 e	6.65 d	4.78 e
کود میکوریزا Mycorrhiza	42.47 a	41.83 a	81.55 b	55.44 d	18.06 a	13.53b
عصاره جلبک Algae extract	35.3 c	31.7 d	86.29 a	54.41de	9.68 c	7.83 d

در هر صفت میانگین‌های دارای حروف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.
based on LSD test. In each trait, means with the same letters, were not significant at the 5% probability level

ادامه جدول ۴.

Continue Table 4.

کود زیستی Bio fertilizer	عملکرد دانه Grain Yield (g)		تعداد غلاف Number of Pods		تعداد دانه در غلاف Number of Seeds per Pod	
	بدون تنش non-stress	تنش stress	بدون تنش non-stress	تنش stress	بدون تنش non-stress	تنش stress
بدون کود Control	1.91 c	0.87 e	11.22d e	9.83 e	10.54 c	7.49 e
کود میکوریزا Mycorrhiza	4.55 a	2.38 b	19.67 a	12.25 cd	14.69 a	10.00 c
عصاره جلبک Algae extract	2.53 b	1.44 d	15.56 b	13.22 c	11.77 b	8.7 d

در هر صفت میانگین‌های دارای حروف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.
based on LSD test. In each trait, means with the same letters, were not significant at the 5% probability level

همبستگی بین صفات

دانه در غلاف مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۶ بالای قطر جدول). در شرایط بدون تنش، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات عملکرد دانه با وزن تر بوته، تعداد و عرض روزنه، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف وجود داشت (جدول ۶ پایین قطر جدول).

هرچند ضرایب همبستگی در تعیین ارتباط صفات مفید هستند، ولی ماهیت ارتباط صفات را به درستی بیان نمی‌کنند. به همین منظور لازم است در برنامه‌های به‌نژادی اثرات مستقیم و غیرمستقیم بین عملکرد و اجزای عملکرد دانه شناخته شود (موسوی و همکاران، ۱۳۹۵؛ زاهدی و همکاران، ۱۳۹۵). برای شناسایی صفات مؤثر بر عملکرد دانه از تجزیه همبستگی، رگرسیون گام به گام و تجزیه علیت استفاده می‌شود (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۵). روش رگرسیون گام به گام سهم هر صفت و میزان تأثیر بر عملکرد را تعیین می‌کند. صفاتی که بیشترین تأثیر را بر عملکرد دارند در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود ژنتیکی عملکرد به‌کار می‌روند (Asadi and Mozaffari, 2006). نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام برای عملکرد دانه (جدول ۶) نشان داد که هم در شرایط تنش و هم در شرایط بدون تنش، تعداد دانه در غلاف تنها متغیری بود که بیشترین تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمود (۹۷ و ۸۷/۷ درصد به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش). در پژوهش دیگری که روی شنبلیله انجام شد در شرایط عدم استفاده از تیمار (شاهد)، وزن هزار دانه و تعداد ساقه فرعی؛ حدود ۷۵ درصد تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمودند و در شرایط محلول‌پاشی با متانول تعداد بذر در غلاف، درصد روغن بذر، تعداد غلاف در بوته و ارتفاع بوته حدود ۸۴ درصد تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمودند (لبافی و همکاران، ۱۳۹۳).

عملکرد، صفتی پیچیده با توارث‌پذیری پایین است، بنابراین گزینش غیرمستقیم عملکرد از طریق صفات مهم زراعی که توارث‌پذیری و همبستگی بالایی با عملکرد دارند می‌تواند مؤثرتر باشد (Falconer, 1960). بررسی روابط عملکرد و اجزای عملکرد و نحوه تأثیرگذاری آن‌ها بر یکدیگر از اهداف مطلوب به‌نژادی گیاهی می‌باشد (Blum, 2010). عدم توجه به نحوه ارتباط و همبستگی بین صفات مختلف ممکن است منجر به بروز مشکلاتی در برنامه‌های به‌نژادی شود (Majidi and Mirlohi, 2009). یکی از روش‌های شناسایی صفات گیاهی مرتبط با عملکرد، تعیین همبستگی بین آن‌ها و عملکرد می‌باشد (Aydin et al., 2010).

نتایج تجزیه همبستگی صفات در شرایط تنش و بدون تنش در جدول ۵ (به ترتیب قطر بالا و پایین جدول) قابل‌مشاهده است. با توجه به اینکه دانه و بوته شنبلیله مصرف خوراکی و دارویی دارد، در این مطالعه به نحوه ارتباط سایر صفات با این دو صفت پرداخته شده است. در شرایط تنش، همبستگی وزن تر با صفات شاخص پایداری غشاء، عملکرد دانه، تعداد و عرض روزنه و تعداد دانه در غلاف مثبت معنی‌دار بود. بیشترین همبستگی وزن تر بوته با عملکرد دانه ($r=0/96^{**}$) مشاهده شد (جدول ۶ بالای قطر جدول). در شرایط بدون تنش، همبستگی وزن تر با صفات عملکرد دانه، تعداد و عرض روزنه، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف مثبت و معنی‌دار بود. بیشترین همبستگی وزن تر بوته با عملکرد دانه ($r=0/99^{**}$) و پس از آن با تعداد دانه در غلاف ($r=0/98^{**}$) مشاهده شد (جدول ۶ پایین قطر جدول). در شرایط تنش، همبستگی عملکرد دانه با صفات شاخص پایداری غشاء، وزن تر بوته، تعداد و عرض روزنه و تعداد

جدول ۵. همبستگی بین صفات در شرایط بدون تنش (قسمت پایین قطر جدول) و تنش (قسمت بالای قطر جدول)

Table 5. Correlation between traits in non- stress conditions (lower part of the table diameter) and stress (upper part of the table diameter)

Traits صفات	Chl	RWC	MSI	PFW	GY	NS	SW	NP	NSP
Chl	1	-0.67*	- 0.003 ^{ns}	0.46 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0.42 ^{ns}	0.49 ^{ns}	-0.37 ^{ns}	-0.33 ^{ns}
RWC	- 0.63 ^{ns}	1	0.48 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.19 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.77*	0.23 ^{ns}
MSI	- 0.57 ^{ns}	0.82**	1	0.86**	0.82**	0.78*	0.72*	0.67*	0.9**
PFW	0.45 ^{ns}	0.1 ^{ns}	0.41 ^{ns}	1	0.96**	0.87**	0.90**	0.46 ^{ns}	0.9**
GY	0.47 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.36 ^{ns}	0.99**	1	0.87**	0.85**	0.54 ^{ns}	0.95**
NS	0.51 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	0.33 ^{ns}	0.94**	0.93**	1	0.62 ^{ns}	0.51 ^{ns}	0.89**
SW	- 0.11 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.72*	0.76*	0.74**	0.69**	1	0.33 ^{ns}	0.77*
NP	0.18 ^{ns}	0.27 ^{ns}	0.63 ^{ns}	0.95**	0.93**	0.9**	0.88**	1	0.62 ^{ns}
NSP	0.42 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.98**	0.99**	0.91**	0.72**	0.93**	1

ns و ** به ترتیب بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح آماری پنج درصد و یک درصد می‌باشند.

ns; Non-significant; * Significant at P≤0.05, ** Significant at P≤0.01

Chl: Chlorophyll Index، شاخص کلروفیل؛ **RWC**: Relative water content، میزان آب نسبی برگ؛ **MSI**: Membrane Stability Index، شاخص پایداری غشاء؛ **PFW**: Plant Fresh Weight، وزن تر اندام هوایی؛ **GY**: Grain Yield، عملکرد دانه؛ **NS**: Number of Stomata، تعداد روزنه‌ها؛ **SW**: Stomata width، عرض روزنه‌ها؛ **NP**: Number of Pods، تعداد غلاف؛ **NSP**: Number of Seeds per Pod، تعداد دانه در غلاف.

جدول ۶. نتایج رگرسیون گام به گام برای عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش

Table 6. Results of stepwise regression for grain yield under non- stress and stress conditions

متغیر تابع Dependent variable	متغیر پیش‌بینی‌کننده Predictive variable	بدون تنش non- stress		تنش stress	
		ضرایب رگرسیون Regression coefficients	ضرایب رگرسیون استاندارد Standard regression coefficients	ضرایب رگرسیون Regression coefficients	ضرایب رگرسیون استاندارد Standard regression coefficients
عملکرد دانه Grain Yield	Intercept عرض از مبدأ	-4.92**	-	-3.25**	-
	تعداد دانه در غلاف Number of Seeds per Pod	0.64**	0.99**	0.55**	0.94**
ضریب تبیین اصلاح شده (درصد) Adjusted R ²		97.0		87.7	

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at P≤0.01

تغییرات این صفت را توجیه نمود. در شرایط تنش صفات تعداد و عرض روزنه‌های سطح برگ بیشترین اثر را بر وزن تر بوته داشتند و ۹۵/۶ درصد از تغییرات را توجیه نمودند.

نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام برای وزن تر بوته به عنوان متغیر تابع و سایر صفات به عنوان متغیر مستقل در شرایط بدون تنش و تنش (جدول ۷) نشان داد که در شرایط بدون تنش تعداد روزنه‌های سطح برگ بیشترین اثر را بر وزن تر بوته داشت و به‌تنهایی ۸۷/۱ درصد

جدول ۷. نتایج رگرسیون گام به گام برای وزن تر بوته در شرایط بدون تنش و تنش

Table 7. Results of stepwise regression for plant fresh weight under non- stress and stress conditions					
متغیر تابع Dependent variable	متغیر پیش‌بینی‌کننده Predictive variable	بدون تنش non- stress		تنش stress	
		ضرایب رگرسیون Regression	ضرایب رگرسیون استاندارد Standard regression	ضرایب رگرسیون Regression coefficients	ضرایب رگرسیون استاندارد Standard regression
	عرض از مبدأ Intercept	-32.98**	-	-46.04**	-
وزن تر بوته Plant fresh weight	تعداد روزنه Stomata number	0.43**	0.94**	0.21**	0.51**
	عرض روزنه Stomata width	-	-	91.29**	0.58**
ضریب تبیین اصلاح شده (درصد) Adjusted R ²		87.1		95.6	

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at P≤0.01

دارند (Hetherington and Woodward, 2003). گیاه در شرایط تنش باید به نحوی هدایت روزنه‌ای خود را تنظیم کند تا علاوه بر اینکه فتوسنتز مناسبی داشته باشد حداقل از دست رفتن آب را داشته باشد (Hyeon-Hye *et al.*, 2004). براساس نتایج رگرسیون گام به گام در شرایط بدون تنش افزایش تعداد روزنه و در شرایط تنش افزایش تعداد و اندازه روزنه اثر مثبتی بر وزن تر گیاه داشته است. بنابراین در این تحقیق افزایش تعداد و اندازه روزنه منجر به افزایش هدر رفت آب گیاه نشده است و گیاه با تنظیم باز و بسته بودن روزنه‌های خود بیشترین کارایی را در حفظ آب و جذب گاز کربنیک محیط داشته است که این منجر به عملکرد بالا شده است.

نتایج تجزیه مسیر وزن تر بوته در شرایط تنش (جدول ۸) نشان داد که عرض روزنه و پس از آن تعداد روزنه‌ها بیشترین اثر مستقیم را بر وزن تر بوته داشتند. بنابراین برای رسیدن به ارقام پرمحصول شنبليله، در شرایط تنش خشکی، انتخاب ارقامی با تعداد روزنه و عرض روزنه بیشتر می‌تواند در حصول حداکثر عملکرد، بسیار مؤثر باشد. همانطور که قبلاً گفته شد روزنه‌ها مدخل اصلی گیاه هستند و نقش مهمی را در کنترل تبادلات گازی، تعرق و فتوسنتز برعهده دارند. اندازه روزنه‌ها معمولاً در پاسخ به عوامل محیطی و درونی تغییر کرده و این باعث می‌شود مقدار آب تعرق شده و گاز کربنیک جذب شده تغییر یابد (Condon, *et al* 2004). تعداد روزنه‌ها در واحد سطح و اندازه آنها نقش بسیار مهمی در تبادلات گازی گیاه

جدول ۸. تجزیه ضرایب مسیر برای وزن تر بوته در شرایط تنش

Table 8. Path analysis for plant fresh weight under stress conditions

صفات Traits	اثر مستقیم Direct Effect	اثر غیرمستقیم Indirect Effect		همبستگی کل با وزن تر بوته Total Correlation with plant fresh weight
		تعداد روزنه Stomata number	عرض روزنه Stomata width	
		تعداد روزنه Stomata number	0.51**	
عرض روزنه Stomata width	0.58**	0.32	-	*0.90*

**معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at $P \leq 0.01$

نتیجه‌گیری نهایی

این شرایط شد. تعداد دانه در غلاف در شرایط تنش و بدون تنش بیشترین اثر را بر عملکرد دانه داشت در حالی که تعداد روزنه‌ها در شرایط بدون تنش و تعداد و عرض روزنه‌ها در شرایط تنش بیشترین اثر را بر وزن تر بوته داشتند؛ بنابراین از این صفات برای بهبود عملکرد دانه و وزن تر بوته می‌توان استفاده کرد.

استفاده از کود میکوریزا در شرایط تنش سبب بهبود اکثر صفات در مقایسه با شرایط عدم استفاده از کود زیستی شد. استفاده از عصاره جلبک در شرایط تنش باعث افزایش وزن تر بوته، عملکرد دانه، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف در مقایسه با عدم استفاده از کود زیستی در

منابع

- احمدی، ع.، سی و سه مرده، ع.، ۱۳۸۳. اثر تنش خشکی بر کربوهیدرات‌های محلول، کلروفیل و پرولین در چهار رقم گندم سازگار با شرایط متفاوت اقلیمی ایران. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳(۵۳): ۷۵۳-۷۶۳.
- احمدی، ع.، م.، شالابی، ا.، ۱۳۹۱. اثر عصاره‌های مختلف جلبک دریایی و کمپوست بر رشد رویشی، عملکرد و کیفیت میوه خیار. فصلنامه گیاهان زینتی و باغبانی، ۴: ۲۳۵-۲۴۰.
- امینیان، ر.، محمدی، ش.، هوشمند، س. و خدامباشی، م. ۱۳۹۱. تعیین محل کروموزومی ژن‌های کنترل کننده عملکرد مرتبط با صفات روزنه و برگ پرچم در گندم نان تحت شرایط تنش خشکی و بدون تنش با استفاده از لاین‌های جایگزین کروموزومی. نشریه زراعت (پژوهش و سازندگی)، ۹۷: ۷۳-۸۱.

شیوا رضازاده و همکاران: تاثیر کودهای زیستی بر صفات مورفوفیزیولوژیک شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*) ...

- امید، ح.، موحدی پویا، ف. و موحدی پویا، ش.، ۱۳۹۰. اثر هورمون سالیسیلیکاسید و خراش دهی بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و محتوی پروتئین، پروتئین و کربوهیدرات محلول گیاهیچه کهورک در شرایط شوری. تحقیقات مرتع و بیابان ایران. ۴ (۱): ۶۰۸-۶۲۳.

- پاک نژاد، ف.، وزان، س.، مجیدی هروان، ا.، نورمحمدی، ق. و سیادت، س. ع.، ۱۳۸۵. بررسی تأثیر تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوای کلروفیل و عملکرد دانه ارقام مختلف گندم. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۷ (۳): ۴۸۱-۴۹۲.

- پزشک‌پور، پ. و موسوی، س. ک.، ۱۳۸۵. تاثیر آرایش کاشت بر تولید محصول نخود فرنگی در شرایط دیم استان لرستان. ۴ (۲)، ۳۷۵-۳۸۴.

- جلیلیان، ج. و حیدرزاده، س.، ۱۳۹۶. بررسی تغییرات عملکرد دانه و اجزای آن و قابلیت نخود سیاه در سرکوب علف‌های هرز در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی، نشریه زراعت دیم ایران. ۶ (۱): ص ۶۷-۸۵.

- جوانرودی، ج.، ۱۳۸۹. کشت ارگانیک سبزی‌ها. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۴۹ صفحه.

- زاهدی، ف.، نباتی احمدی، د.، محمدی، م.، کریمی زاده، ر.، ۱۳۹۵. تجزیه علیت جهت مطالعه صفات مرفو-فیزیولوژیک، عملکرد و صفات مربوط به عملکرد ژنوتیپ‌های عدس در شرایط دیم. مجله تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، ۳۹ (۱): ۷۱-۸۹.

- رحیمی، م.، هوشمند، س.، خدامباشی، م.، ۱۳۹۵. تعیین مهمترین صفات زراعی مؤثر بر عملکرد دانه لاینهای خالص نوترکیب عدس (*Lens culinaris Medik.*) مجله علوم زراعی ایران، ۸ (۲): ۱۶۱-۱۷۷.

- کریمی افشار، آ. باقی‌زاده، ق.، ۱۳۹۴. ارزیابی فیزیولوژیک تحمل به خشکی دو اکوتیپ زیره سبز تحت شرایط گلخانه‌ای، علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۶ (۲۳): ۱۷۵-۱۸۴.

- لبافی، م. ح.، نقدیادی، ح.، اسکندر زند، ا.، قادری، ا.، نورمحمدی، ق.، قوامی، ن.، خلیج، ح.، مهرآفرین، ع.، ۱۳۹۳. تعیین مهم ترین اجزای عملکرد تریگونلین دانه شنبلیله (*Trigonella foenum - graecum L.*) بر مبنای تجزیه علیت رگرسیون، فصلنامه گیاهان دارویی، ۲ (۵۰): ۱۴۴-۱۵۰.

- موسوی، س. ع.، عبدالحی، م. ر.، قنبری، ف.، کانونی، ه.، ۱۳۹۵. شناسایی و گزینش صفات مؤثر بر عملکرد دانه نخود زراعی تحت شرایط نرمال رطوبتی. مجله تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، ۳۹ (۱): ۱۱۹-۱۳۱.

- نظری، م. و عبدالشاهی، ر.، ۱۳۹۲. ارزیابی نقش تنظیم اسمزی دانه گرده، محتوای آب نسبی و تراکم روزنه در تحمل خشکی

(*Triticum aestivum L.*) در ۴۰ رقم گندم نان. مجله علوم زراعی ایران، ۱۵ (۳): ۲۲۲-۲۳۳.

- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. and Abdel-Wahhab, M. A., 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *J. Plant Physiol*, 169, 704-709.
- Abedi, T. and Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.) *Czech. J. Genet. Plant Breed*, 46: (1) 27–34.
- Asadi, A. and Mozaffari, A. K. 2006. Relationship among yield components and selection criteria for yield improvement in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Appl. Sci*, 6(13): 2853-2855.
- Aydin, N., Sermet, C., Zeki Mut, H., Bayramoglu, O. and Ozcan, H. 2010. Path analysis of yield and some agronomic and quality traits of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under different environments. *Afr. J. Plant Sci. Biotechnol*, 9(32): 5131-5134.
- Azizpour, K., Shakiba, M.R., Khosh Kholgh Sima, N.A., Alyari, H, Moghaddam. M., Esfandiari, E., and Pessaraki, M. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *J. Plant Nutr*, 33: 859-873.
- Bahavar. N., Ebadi. A., Tobeh. A. and Jamati Somarin. SH. 2009. Effects of nitrogen application on growth of irrigated chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress in hydroponics conditions. *Res. J. Environ. Sci*, 3(4): 448 – 455.
- Blum, A. 2010. *Plant breeding for water-limited environments*. New York, NY: Springer Publishing.
- Cherif, H., Marasco, R., Rolli, E., Ferjani, R., Fusi, M., Soussi, A., Mapelli, F., Blilou, I., Borin, S. and Boudabous, A., 2015. Oasis desert farming selects environment- specific date palm root endophytic communities and cultivable bacteria that promote resistance to drought. *Environ. Microbiol. Rep*, 7: 668-678.
- Condon, A. G., Richards, R. A., Rebetzek, G. J and Farquhar, G. D. 2004. Breeding for high water use efficiency. *Exp. Bot*. 55: 2447-2460.
- Falconer, D. S. 1960. *Introduction to quantitative genetics*. New York: The Ronald Press Company.
- Frosi, G., Barros, V.A., Oliveira, M.T., Santos, M., Ramos, D.G., Maia, L.C and Santos, M.G. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi and foliar phosphorus inorganic supply alleviate salt stress effects in physiological attributes, but only arbuscular mycorrhizal fungi increase biomass in woody species of a semiarid environment. *Tree Physiol*, 1 (38): 25–36.
- Gogala, N. 1991. Regulation of mycorrhizal infection by hormonal factors produced by hosts and fungi. *Experientia*, 47: 331-340.
- Gogoi, P. and Singh, R. K. 2011. Different effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L. (*Piperaceae*). *Indian J. Sci. Tech*, 4: 2, 119- 125.
- Gunes, A., Inal, A., Adak, M. S., Bagci, E. G., Cicek, N. and Eraslan, F. 2008. Effect of drought stress implemented at pre- or post-anthesis stage some physiological as screening criteria in chickpea cultivars. *Russ. J. Plant Physiol*, 55: 59–67.
- Han, H. S. and Lee, K. D. 2006. Effect of inoculation with phosphate and potassium co-insolubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber, *Plant Soil Environ*, 52: 130-136.
- Hetherington, A. M and Woodward, F. I. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 242: 901-908.
- Hyeon-Hye K, Gregory D. G, Raymond, M. W and John, C. S .2004. Stomatal conductance of lettuce grown under or exposed to different light qualities. *Ann Bot*, 94: 691-967.
- Karagiannidis, N. Thomidis, T. Panou-Filotheou, E. and Karagiannidis, C.H. 2012. Response of three mint and two Oregano species to *Glomus etunicatum* inoculation. *Aust. J. Crop Sci*, 6:1, 164- 169.
- Khalid, K. A. 2006. Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). *Agrophys. J*, 20: 289- 296.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Mundaya, N., Jithesh, M. N., Rayirath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J. and Prithivira, j. B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul*, 28:386–399.

- Leport, L., Turner, N. C., Davies, S. L. and Siddique, K. H. M. 2006. Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought European. J. Agron, 14: 236-246.
- Majidi, M. M. and Mirlohi, A. F. 2009. Genetic variation, heritability and correlations of agro-morphological traits in tall fescue (*Festuca arundinacea*). Euphytica, 167(3), 323-331.
- Mandegary, A., Pournamdari, M., Sharififar, F., Pournourmohammadi, Sh. and Fardiar, R. Shooli, S. 2012. Alkaloid and flavonoid rich fractions of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.) with antinociceptive and anti-inflammatory effects. Food Chem. Toxicol, 50: 2503-2507.
- Mehrafarin, A., Rezazadeh Sh, Naghdi Badi, H., Noormohammadi, Gh., and Qaderi, A. 2011. A Review on Biology, Cultivation and Biotechnology of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a Valuable Medicinal Plant and Multipurpose. J. Med. Plant. 10 (37): 6- 24.
- Ommen, O. E. and A. Donnelly. 1999. Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO₂ concentrations and other environmental stresses within the 'ESPACE-wheat' project. Eur. J. Agron, 10: 197-203.
- Pastenes, C. Pimentel, P. and Lillo, J. 2005. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. J. Exp. Bot, 56:425-433.
- Ryan, J. G. 1997. A global perspective on pigeonpea and chickpea sustainable production system: present status and future potential. In: A.N. Asthana and M. Ali (Eds.), Recent advances in pulses research. Indian Institute of pulses Research, Kanpur, India.
- Sabagh pour, S. 2003. Mechanisms of Drought Tolerance in Plants. Quarterly drought and agricultural drought. 21-32.
- Sadeghzadeh Ahari, D. Hassandokht, M. R. Kashi, A. K. Amri, A. Alizadeh, K. 2010. Genetic variability of some agronomic traits in the Iranian fenugreek accessions under drought stress and non-stress conditions. Afr. J. Plant Sci, 4 (2):12-20.
- Song, H. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanisms. J. Biol, 1(3): 44-48.
- Schubler, A., Schwarzott, D. and Walker, C. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. Mycol. Res. 2001, 105, 1413-1421.
- Wu, S. C. Cao, Z. H. Li, Z. G., Cheung, K. C. Wong, M. H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma, 125:155-166.
- Xiao, X., Xu, X. and Yang, F. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations. Silva Fennica, 42: 705-719.
- Yu, G.R. Wang, Q. F. Zhuang, J. 2004. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses: application of a synthetic model of photosynthesis- transpiration based on stomatal behavior. J. Plant Physiol. 161 (3): 303-318.

Effect of Biological Fertilizers on Morpho-physiological Traits of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in Different Moisture Conditions

Shiva Rezazadeh Roghani¹, Roghayeh Aminian^{2*}, Sudabeh Mafakheri³, Behvar Asghari⁴

- 1- Plant Breeding Graduated Student, Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.
- 2- Assistant Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.
- 3- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.
- 4- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.

Received Date: 2019/07/11

Accepted Date: 2019/09/18

ABSTRACT

Introduction: Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) that belongs to the Fabaceae family, has been commonly used as a traditional food and medicine (Mehrafarin *et al.*, 2011). Several experimental and clinical studies support beneficial effects of fenugreek in the management of metabolic diseases and inflammatory disorders. Water shortage is one of the most important limiting factors which reduces the growth of fenugreek and other plants around the world and the most common environmental stress (Abedi and Pakniyat, 2010). In recent years, the excessive use of fertilizers and chemicals in agricultural production systems has increased the risk of environmental pollution and agricultural products. Bio-fertilizers as an alternatives or supplementary for chemical fertilizers, can guarantee the sustainability of agricultural production systems (Han *et al.*, 2006). Therefore, considering the importance of bio fertilizers and water shortage, this experiment was conducted to study the effect of mycorrhizal and green algae bio fertilizers on morpho-physiological traits and the relationships between these traits under low and conventional irrigation regimes.

Materials and Methods: In order to study the effect of bio fertilizers on reducing the impact of drought stress in fenugreek, an experiment was conducted in two-factor factorial format in a randomized complete block design with three replications in greenhouse conditions. The first factor was irrigation at two levels comprising without stress (irrigation based on 100% soil capacity) and low irrigation stress (irrigation based on 40% soil capacity), and the second factor was biological fertilizer at three levels (without bio fertilizer, use of mycorrhiza fungi and use of green algae). The studied traits included chlorophyll, leaf relative water content, membrane stability index, plant fresh weight, grain yield, number and width of leaf stomata, number of pods and number of seeds per pod.

Results and Discussion: The results of variance analysis showed that irrigation effect was significant for all traits except for the number of stomata. The effect of bio fertilizer on all traits was significant, and interaction between irrigation and bio fertilizer was significant for most of the traits except for the relative water content of the leaves. The highest grain yield (4.55 g. plant⁻¹) and the highest plant fresh weight (18.06 g. plant⁻¹) respectively, were obtained under non-stress conditions and using mycorrhiza. Using mycorrhizal bio fertilizer under stress conditions improved the majority of traits compared to non-use of bio fertilizer. Under stress conditions, plant fresh weight had positive and significant correlation with the membrane stability index, grain yield, stomata number, stomata width and number of seeds per pods (Table 6 above the diameter of the table). Under non- stress conditions, the correlation of plant fresh weight with grain yield, stomata number, stomata width, number of pods and number of seeds per pod was positive and significant (Table 6 below the diameter of the table). Under stress conditions, positive and significant correlation was observed between grain yield with membrane stability index, plant fresh weight, stomata number, stomata width and

number of seeds per pod (Table 6 above table diameter). Under non- stress conditions, there was a positive and significant correlation between grain yield with fresh weight of plant, stomata number, stomata width, number of pods and number of seeds per pod (Table 6 below the diameter of the table). The stepwise regression showed that the number of seed per pod in stress and non-stress condition had the highest effect on grain yield, while the number of stomata in non-stress conditions and the number and width of stomata in stress conditions had the highest effect on plant fresh weight.

Conclusions: A significant increase in quantity and quality of yield is achieved by paying attention to the relationships between yield and yield components and their effect on each other. The number of seed per pod; and the number of stomata and stomata width can be respectively used to improve grain yield and fresh weight of fenugreek under stress conditions.

Keywords: Algae extract, Mycorrhiza, Stepwise Regression, Stress