67-89/Journal of Soil Biology Vol. 13, No. 1, 2025

Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology

https://sbj.areeo.ac.ir/

Research article

The effect of the application of coal ash in soil on the symbiotic indices of chickpea inoculated with *Mesorhizobium* and mycorrhizal fungi

Ali Akbar Safari Sinegani[1]* and Leila Karami[2]

1-Prof. of Soil Science, Department of Soil Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: aa-safari@basu.ac.ir

2- Former MSc. Student of Soil Science, Department of Soil Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. leila.karami69@gmail.com

Article Info

Received: 2025-02-16
Accepted: 2025-07-09

Keywords: Bitominous coal, Funneliformis mosseae, Iranian pea, *Mesorhizobium* ciceri, Rhizophagus irregularis

Corresponding author's email:
aa-safari@basu.ac.ir

DOI: 10.22092/SBJ.2025.368447.278

Extended Abstract

Background and objectives: Iranian chickpea (*Cicer arietinum L.*) ranks third globally in edible legumes, but leads in the Mediterranean and South Asia. It enhances soil nitrogen through symbiosis with *Rhizobium* bacteria, contributing to sustainable agriculture. Coal, a major energy source, produces ash that can pollute if misused but can improve soil properties when applied properly. Coal ash enhances plant growth and nutrient uptake but higher concentrations may reduce beneficial microbes. Mycorrhizal fungi and *Rhizobium* bacteria form valuable symbiotic relationships with legumes. The study aimed to investigate the effects of bituminous coal ash on the tripartite symbiosis between chickpea plants, mycorrhizal fungi, and rhizobial bacteria.

Materials and methods: The study was conducted in a low-phosphorus soil with a loam texture, collected from Azandarian, Hamadan Province, Iran. Bituminous coal ash was obtained from the Shek-Maidan mine, Kermanshah Province. Physical and chemical properties of the soil and coal ash were analyzed using standard methods. A factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted on sterilized soil. The factors included coal ash at four levels (0%, 2.5%, 5%, and 10%), mycorrhizal fungi inoculation (*Funneliformis mosseae* and *Rhizophagus irregularis*, or no inoculation), and *Mesorhizobium ciceri* inoculation (with or without). Chickpea seeds were surface-sterilized and inoculated with *Mesorhizobium* before sowing. Mycorrhizal inoculum and chickpea seeds were obtained from certified sources. Soil and coal ash mixtures were sterilized in an autoclave, and 3 kg of the mixture was placed in each pot. Mycorrhizal inoculum (100 g) was applied below the seeds. Six chickpea seeds were planted per pot and thinned to two after germination. The plants were grown under greenhouse conditions without any additional fertilizers, and pots were watered regularly. At flowering, plants were harvested, and roots were separated from the soil. Nodules were counted, and root colonization by mycorrhizal fungi was assessed using staining techniques. Glomalin-related soil proteins were extracted and quantified, and fungal spores in the soil were counted using centrifugation in a sugar solution. Data were analyzed using Excel and SAS software.

Results: The results indicated that the application of coal ash at the 2.5% level significantly improved the symbiotic interactions between chickpea plants and

both mycorrhizal fungi and rhizobial bacteria compared to the control (no coal ash). Specifically, this treatment increased the number of nodules formed by *Mesorhizobium* and enhanced the establishment of mycorrhizal symbiosis. In contrast, applying higher concentrations of coal ash (5% and 10%) resulted in a notable decline in these beneficial symbiotic relationships, as evidenced by a decrease in both mycorrhizal colonization and rhizobial nodule formation.
The highest mean number of rhizobial nodules per pot (41.66) was found in treatments where both *Mesorhizobium* inoculation and 2.5% coal ash application were combined, along with inoculation of *Funneliformis mosseae*. This combination produced the most favorable environment for both the mycorrhizal fungi and rhizobia. On the other hand, the lowest number of rhizobial nodules (3.66) was recorded in the 10% coal ash treatment where no mycorrhizal inoculation was applied, suggesting that excessive coal ash inhibits the formation of beneficial microbial interactions.

Conclusion: This study demonstrate that the application of bituminous coal ash in small amounts significantly enhances biological parameters, such as the abundance and weight of Mesorhizobium nodules on the roots of white chickpea plants, the percentage of mycorrhizal colonization of the roots, the number of Glomale spores in the soil, and soil glomalin or glycopeptides. Applying coal ash in low amounts (2.5%) could be beneficial for chickpea growth by improving symbiotic relationships with both mycorrhizal fungi and rhizobia, thus enhancing plant growth and function. However, increasing the coal ash concentration to higher levels (5% and 10%) can deteriorate the soil's ability to support these beneficial symbiotic interactions, leading to reduced plant growth. Although the response of the two fungi species was not significantly different, *Funneliformis mosseae* demonstrated greater tolerance and better performance in response to the harmful effects of ash. Inoculation with Mesorhizobium increased symbiotic associations with fungi, particularly *Rhizophagus irregularis*, in the plant, while the inoculation and application of mycorrhizal fungi promoted nodule formation and symbiosis between Mesorhizobium and the chickpea plant. Therefore, the application of 2.5% bituminous coal ash in the soil is beneficial for chickpea growth and its symbiotic relationship with microorganisms, whereas higher doses may have adverse effects on plant growth and overall soil health. This highlights the potential risks associated with high concentrations of coal ash in agricultural systems.

Cite this article:Safari Sinegani, A.A., Karami, L., 2025. The effect of the application of coal ash in soil on the symbiotic indices of chickpea inoculated with Mesorhizobium and mycorrhizal fungi. Journal of Soil Biology, 13 (1),pp. 67-89

CC BY NC

DOI: 10.22092/SBJ.2025.368447.278
Publisher: Soil Science Society of Iran

دو فصلنامه

نشریه زیست‌شناسی خاک

https://sbj.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ بر شناسه‌های همزیستی گیاه نخود سپید مایه‌زنی شده با *Mesorhizobium ciceri* و قارچ‌های میکوریز

علی اکبر صفری سنجانی*و لیلا کرمی

۱-استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.aa-safari@basu.ac.ir

۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.leila.karami69@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸ پذیرش: ۱۴۰۴/۴/۱۸

چکیده

برای بررسی پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ گونه بیتومینه[1] بر همزیستی سه گانه گیاه نخود-قارچ-باکتری، آزمایشی گلدانی بر یک خاک سترون شده به گونه فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شده کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در ۴ اندازه (۰، ۲/۵ ، ۵ و ۱۰ درسد) ، مایه‌زنی قارچ میکوریزا در سه تیمار (بدون مایه‌زنی، مایه‌زنی با قارچ *Funneliformis mosseae* و مایه‌زنی با *قارچ Rhizophagus irregularis*) و مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* در دو تیمار (بدون مایه‌زنی و مایه‌زنی با *مزوریزوبیوم*) بود. تیمار خاک با ۲/۵ درسد خاکستر زغال‌سنگ مایه افزایش چشم‌گیر شناسه‌های همزیستی گیاه نخود با قارچ‌های میکوریزی و *Mesorhizobium ciceri* در برابر گواه آزمایش شد، ولی این شناسه‌ها در تیمارهای کاربرد ۵ و ۱۰ درسد خاکستر در برابر گواه کاهش پیدا کردند. میانگین شمار گره‌های ریزوبیومی در تیمار ۲/۵ درسد خاکستر زغال‌سنگ در گلدان مایه‌زنی شده با *Funneliformis mosseae* بالاترین (۴۱/۶۶) و در تیمار ۱۰ درسد خاکستر زغال‌سنگ و بدون مایه‌زنی میکوریزا کمترین (۳/۶۶) بود. کاربرد کودهای زیستی میکوریزی و *مزوریزوبیوم* هر یک مایه بهبود همزیستی گیاه با دیگری شد، ولی این پیامدهای سودمند آنها بر هم، در تیمار ۱۰ درسد خاکستر زغال‌سنگ چشم‌گیر نبود. اگر چه شناسه‌های بررسی شده در میان قارچ‌ها ناهمانندی چندانی نداشت ولی بردباری *Funneliformis mosseae* در برابر خاکستر زغال‌سنگ کمی بیشتر *Rhizophagus irregularis* بود. این پژوهش نشان داد که کاربرد خاکستر زغال‌سنگ گونه بیتومینه در اندازه کم (۲/۵ درسد) از راه بهبود همزیستی گیاه نخود با قارچ‌های میکوریزی و *Mesorhizobium ciceri* می‌تواند در افزایش رشد و کارکرد آن سودمند باشد ولی کاربرد آن در اندازه‌های فراوان (۵ و ۱۰ درسد) در خاک می‌تواند ویژگی‌های خاک را برای همزیستی گیاه نخود ناشایست کند.

واژه‌های کلیدی: زغال‌سنگ بیتومینه، نخود ایرانی، *Funneliformis mosseae*، *Mesorhizobium ciceri*، *Rhizophagus irregularis*.

[1] bituminous coal ash

استناد: صفری سنجانی، ع.ا.، کرمی، ل.، ۱۴۰۴. پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ بر شناسه‌های همزیستی گیاه نخود سپید مایه‌زنی شده با Mesorhizobium ciceri و قارچ‌های میکوریز. مقاله پژوهشی، نشریه زیست شناسی خاک ، (۱)۱۳،ص ۸۹-۶۷.

مقدمه

پس از نخود فرنگی و لوبیا، نخود ایرانی یا سپید (*Cicer arietinum L*) در میان نیامداران خوراکی، جایگاه سوم را در جهان دارد؛ ولی در مدیترانه و جنوب آسیا جایگاه نخست را دارد (Kochaki and Banayan-Aval, 1993). این گیاه با تثبیت نیتروژن با باکتری‌های ریزوبیومی کارایی ویژه‌ای افزایش نیتروژن خاک دارد. نخود سپید با ویژگی‌هایی همچون توانایی تثبیت نیتروژن، ریشه دهی خوب و ژرف و نیز توان بهره‌گیری خوب از ریزش‌های آسمانی جایگاه و کارایی ویژه‌ای در کشاورزی پایدار دارد (Ganjeali et al., 2008).

زغال‌سنگ از دیرباز همانند یک ماده انرژی‌زا بکار رفته و نخش بسزایی در پیشرفت شیوه ترابری و خودروسازی داشته است. هیدروکربن‌هایی که در ژرفای زمین پدید آمده‌اند از راه گذرگاه‌هایی همچون گسل‌ها و درزها به رویه زمین می‌رسند. در پی کاهش فشار در رویه زمین و نزدیکی با هوا، بخش‌های گازی از آن جدا می‌شود و مانده آن به گونه بیتومین یا قیر طبیعی[۲] در درزها، شکاف‌ها و کاواک‌ها می‌ماند و اندوخته‌های بیتومینی را در رویه زمین می‌سازند (Heydarizadeh et al., 2013). یکی از زباله‌های زغال‌سنگ، خاکستر آن می‌باشد که بهره‌گیری نادرست از آن می‌تواند مایه آلودگی خاک و آب شود (Mittra et al., 2005; Saberi et al., 2023). به هر گونه Saber و همکاران (2023) و Rezae و همکاران (2023) با بررسی زباله ها و خاک های آلوده شده به زباله های زغال‌سنگ آلودگی به فلزهای سنگین ناچیز و کم گزارش کرده و از این دیدگاه آن را بی‌زیان ارزیابی کردند. گزارش‌هایی دردست است که کاربرد خاکستر زغال‌سنگ را در کشاورزی سودمند دانسته و آن را مایه بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک می‌دانند که می تواند رشد گیاه را افزایش دهد (Pandey and Singh, 2010; Rezae et al., 2023). همچنین Singh و همکاران (1997) گزارش دادند که خاکستر زغال‌سنگ با داشتن اندازه بالایی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، رشد آن و جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد. بر پایه پژوهش Pichtel (1990) فراوانی اکتینومیست‌ها و قارچ‌ها با افزودن ۵ درسد خاکستر زغال‌سنگ به خاک کاهش می‌یابد. افزودن ۲۰ درسد خاکستر زغال‌سنگ به ترتیب ۵۷، ۸۶ و ۸۰ درسد از فراوانی باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها را کاهش داده است. Rezae و همکاران (2023) با ارزیابی پیامد کاربرد خاکستر بادی زغال-سنگ بر برخی از ویژگی های خاک و شناسه‌های رشدی گیاه گزارش کردند که کاربرد خاکستر بادی زغال‌سنگ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مانند pH ، رسانایی الکتریکی، پوکی، گنجایش نگهداری آب و مواد مغذی را افزایش می‌دهد. همچنین در کاربرد اندازه‌های پایین خاکستری بادی شناسه های گیاهی چون درازی ساقه و ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه، شمار میوه، کاروتنوئید، کلروفیل، اندوخته نسبی آب برگ، اندوخته پروتئین، پرولین، فنل‌ها، نیتروژن، فسفر و پتاسیم به گونه چشم‌گیری افزایش یافت. ولی در کاربرد اندازه‌های بالاتر (۲۵٪) خاکستر بادی، با پیدایش تنش‌های اکسیداتیو همه شناسه‌های یاد شده کاهش یافتند. بر پایه برآوردهای انجام شده، نزدیک ۷۰ درسد از توده زنده خاک‌ها را میسیلیوم قارچ‌های میکوریزی می‌سازد (Mukerji and Chmola, 2003). قارچ‌های میکوریزی بسیار گوناگون هستند که می‌توانند به ریخت های گوناگونی با ریشه گیاهان همزیستی داشته باشند. امروزه قارچ‌های میکوریزایی آربوسکولار را در یک شاخه نوین از قارچ‌ها به نام شاخه گلومرومایکوتا[۳] گروه بندی می‌کنند (Safari Sinegani, 2013). همزیستی گیاهان با این قارچ‌ها بسیار سودمند بوده که مایه افزایش توان آنها برای زندگی در

[۲]-Natural bitumen

[۳]- Glumeromycota

زیستگاه‌های سخت و دشوار می‌شود. کود زیستی این گروه از ریزجانداران هم در کشاورزی و هم در بهسازی و زنده‌سازی خاک‌های کانسارها و آلوده کاربرد دارد (Qiu et al., 2019). همزیستی قارچ‌های میکوریزی با گیاه از راه‌های گوناگونی برای گیاه سودمند است. این همزیستی بویژه مایه افزایش جذب فسفر و توان گیاه برای زندگی و رشد در زیستگاهای سخت و آلوده می‌شود. Begum و همکاران (2023) پیامد همزیستی قارچ‌های میکوریزی را بر افزایش توان گیاه در برابر تنش خشکی بررسی کرده و نشان داد که همزیستی سویای بومی و تراریخته با *Rhizophagus irregularis* به گونه چشم گیری پیامدهای ناخواسته خشکسالی بر رشد گیاه را کاهش می‌دهد. مایه‌زنی AMF زیست توده گیاه، گسترش ریشه، ساخت کلروفیل، فتوسنتز و فلورسانس کلروفیل را در گیاهان بومی و تراریخته در تنش خشکی و بدون آن افزایش داد. اگر چه خشکی مایه ساخت اکسیدکننده‌های کارا مانند پراکسید هیدروژن می‌شود که شناسه پایداری پرده سیتوپلاسمی (MSI) را کاهش می‌دهد، گیاهان دارای همزیستی با این قارچ اکسیدکننده‌های کارای کمتر و کارایی انتی‌اکسیدانی بیشتری داشتند. همچنین کارکرد اسمولیت، نیتروژن و نیترات ردوکتاز را در بهبود بخشیده که افزایش اندوخته نسبی نسبی آب برگ را درپی داشت.از سوی دیگر همزیستی گیاهان نیامدار با ریزوبیوم‌ها بویژه در چراگاه‌ها و دیمزارها بسیار سودمند است (Safari Sinegani, 2013). گزارش شده است که کاربرد کود فسفره و همزمان مایه‌زنی دانه نخود با یک سویه ریزوبیومی کارا در خاک‌های نابارور مایه افزایش فراوانی و وزن گره، و همچنین بهبود شناسه‌های رشد گیاه در برابر گیاهان در خاک‌های مایه-زنی نشده شد. شناسه‌های گیاهی مانند رویه ویژه برگ، تندی رشد نسبی (RGR)، وزن خشک، بلندی بوته و فراوانی شاخه‌ها؛ غلاف‌ها و دانه‌ها در هر بوته، برداشت دانه و وزن ۱۰۰ دانه به گونه چشم‌گیری در گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری‌های ریزوبیومی بویژه همزمان با کاربرد کود فسفر در برابر گواه آزمایش افزایش داشت (Gebremariam and Tesfay, 2021). از سوی دیگر کاربرد همزمان فارچ‌های میکوریزی و باکتری های افزاینده رشد گیاه می تواند مایه هم‌افزایی پیامد سودمند این قارچ‌ها بر رشد گیاه شود (Pourmirzaei et al., 2021; Nadian Ghomsheh, 2024). گزارش شده است که کاربرد همزمان قارچ‌های *Funneliformis mosseae* (FM)، *Rhizophagus intraradices* (RI) و *Rhizophagus irregalaris* (RIr) همراه با مخمر (*Issatchenkia orientalis*) و یا با باکتری افزاینده رشد گیاه (*Pseudomonas fluorescens VUPf5*) در کشت گیاه ذرت رقم *SC750* توان رشد آن بیشتر شد. در این تیمارها شناسه‌هایی چون پهنا و دارازی ساقه، رویه برگ، وزن تر و خشک‌ریشه و وزن‌تر خشک شاخساره به گونه چشم-گیری افزایش یافت (Ahmadzadeh et al., 2022).بنابر پژوهش‌های یادشده کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در خاک می‌تواند مایه دگرگونی ویژگی‌های خاک شده و بر همزیستی گیاه نخود با ریزجانداران پیامد داشته باشد (Mittra et al., 2005; Channabasava et al., 2015). از آنجایی که دگرگونی ویژگی‌های خاک و همزیستی گیاه با باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌تواند مایه کاهش یا افزایش شناسه‌های رشدی گیاه نخود شود، پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در خاک نیاز به بررسی ویژه‌ای دارد. این پژوهش با هدف بررسی و شناخت پیامدهای کاربرد خاکستر زغال‌سنگ بر شناسه‌های همزیستی گیاه نخود سپید با قارچ‌های میکوریزی و باکتری *Mesorhizobium ciceri* در کودهای زیستی خریداری شده، انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در خاکی با فسفر کم و بافت میانه (لوم شنی) انجام شد. برای آن یک خاک آیش که پیشتر در آن گندم کشت شده بود، در شهرستان ازندریان استان همدان

(۳۴″ ۳۰′ ۳۲/۲۷° عرض شمالی و ۴۸″ ۴۱′ ۵۵/۲۹° طول شرقی) گزینش و از لایه ۳۰-۰ سانتی متری آن به روش مرکب نمونه برداری گردید. همچنین خاکستر زغال‌سنگ بیتومین (گیلسونایت) از کانسار شک میدان- کلیدوند (شمال غرب شهرستان گیلان غرب) در طول جغرافیایی ۴۰″ ۳۵′ ۴۵° تا ۲۰″ ۵۰′ ۴۵° و عرض جغرافیایی ۲۰″ ۲′ ۳۴° تا ۳″ ۳۰′ ۳۴° در استان کرمانشاه گردآورده شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و خاکستر زغال‌سنگ به روش‌های زیر بررسی شد. دانه‌بندی و بافت خاک بر پایه قانون استوکس و به روش هیدرومتری بررسی شد (Gee and Bauder, 1986). دانه‌بندی و بافت خاکستر زغال‌سنگ نیز با بهره‌گیری از روش الک کردن بررسی و بر پایه سیستم وزارت کشاورزی آمریکا گزارش شد (Skaggs et al., 2001). توان رسانندگی الکتریکی در عصاره ۱:۵ خاک و خاکستر به آب، به کمک دستگاه رسانایی سنج (مدل ۷۱۲) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه‌گیری شد (Roades, 1990). اسیدیته خاک و خاکستر در عصاره ۱:۵ خاک و خاکستر به آب، به کمک دستگاه پی اچ متر(مدل ۷۲۸) اندازه‌گیری شد (Thomas, 1996). اندازه‌گیری کربن آلی خاک به روش اکسایش تر انجام گرفت (Walkley and Black, 1934) ولی کربن آلی خاکستر زغال‌سنگ به روش سوزاندن در کوره اندازه‌گیری شد (SFS-EN, 2000). فسفر اولسن به کمک عصاره گیری بیکربنات سدیم ۰/۵ مولار در پی اچ ۸/۵ به روش اولسن و با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Morphy and Riley, 1962). کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی اندازه‌گیری شد (Loeppert and Suarez, 1996). گنجایش تبادل کاتیونی به کمک استات سدیم و و استات آمونیوم اندازه‌گیری شد (Bower et al., 1952).

کاربرد تیمارها و کشت گیاه

این پژوهش آزمایشی سه فاکتوره بود که به گونه کاملا تصادفی در سه تکرار بر روی خاک سترون شده در اتوکلاو به روش زیر در گلخانه دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. فاکتور نخست، خاکستر زغال‌سنگ در چهار اندازه (بدون خاکستر زغال‌سنگ (گواه خاکستر)، ۲/۵ درسد، ۵ درسد و ۱۰ درسد)، فاکتور دوم مایه‌زنی با قارچ میکوریزی بود که در سه تیمار بدون مایه‌زنی میکوریزا (گواه قارچ)، مایه‌زنی با *Glomus moseae* و مایه‌زنی با *Rhizophagus irregularis* بود. فاکتور سوم آزمایش مایه‌زنی با *مزوریزوبیوم* بود که در دو تیمار بدون مایه‌زنی با *مزوریزوبیوم* (گواه *Mesorhizobium ciceri*) و با مایه‌زنی *مزوریزوبیوم* انجام شد. قارچ‌های میکوریز از کلینیک گیاه پزشکی ارگانیک در شهرستان اسدآباد در استان همدان و همچنین باکتری بکار رفته (*مزوریزوبیوم سیسری*) از شرکت زیست مهر آسیا در استان سمنان خریداری شد. برزهای نخود بکاررفته در این پژوهش رقم بیونیج و بومی استان کرمانشاه است که از جهاد کشاورزی شهرستان گیلانغرب خریداری شد.در آغاز نمونه خاک به دست آمده با ۴ اندازه صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درسد از خاکستر زغال‌سنگ آمیخته شد. سپس هر یک از آمیخته‌های خاک و خاکستر برای نیم ساعت در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد سترون گردید. برای کشتن همه اسپورهای قارچ و سترون‌سازی خاک این کار برای سه بار در سه روز انجام شد. رویه دانه‌های نخود نیز به کمک محلول ۱ درسد هیپوکلرید سدیم (وایتکس خانگی) گندزدایی شدند (Safari Sinegani et al. 2010). سپس برای آلوده‌سازی با باکتری *مزوریزوبیوم*، برزهای نخود با کودزیستی ریزوچیک-پی سوپر پلاس[۴] مایه‌زنی شدند. کود ریزوچیک-پی سوپر پلاس

[۴] Rhizochickpea Super Plus Biofertilizer

به گونه پودر جامد بود. آماده‌سازی و کاربرد آن بر پایه روش یاداشت شده روی برچسب این فرآورده انجام شد. هنگام کاشت دانه‌های نخود، به اندازه ۰/۰۶۴ گرم از چسبی که درون جعبه کود بود با ۸ میلی لیتر آب شهری آمیخته شد، پس از آن ۲۰۰ گرم دانه‌های نخود گندزدایی شده با آن آمیخته شد. سپس ۵/۷۱ گرم از کود زیستی *Mesorhizobium ciceri* به گونه دورانی بر روی دانه‌های نخود آمیخته شده با چسب، پاشیده شد و به این گونه برزهای نخود به باکتری *Mesorhizobium ciceri* آلوده شدند.یادآور شود که رویه-ی گلدان‌های بکار رفته در آغاز با هیپوکلرید سدیم (وایتکس) شسته و گندزدایی شد. پس از وزن کردن گلدان‌ها، در کف هر یک از آنها به اندازه‌ای برابر سنگریزه برای انجام زهکشی ریخته شد. سپس ۳ کیلوگرم آمیخته خاک و خاکستر زغال‌سنگ با اندازه‌های یاد شده در بالادر گلدان‌ها ریخته شد. برای آلوده‌سازی گلدان‌ها به قارچ میکوریز، زادمایه به اندازه ۱۰۰ گرم در زیر جایگاه کشت برز در هر گلدان ریخته شد، و در هر گلدان ۶ دانه نخود مایه‌زنی شده به باکتری کاشته شد. سپس بر روی دانه‌ها ۳-۲ سانتی متر از آمیخته خاک و خاکستر ریخته شد. سپس گلدان‌ها در گلخانه دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا بر پایه الگوی طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار آرایش یافتند. روی هم رفته شمار گلدان‌ها در این آزمایش‌ها ۷۲ گلدان بود. گلدان‌ها بدون کاربرد هر گونه کود آلی یا شیمیایی روزانه بررسی و آبیاری شدند. پس از گذشت نزدیک دو هفته تنک شدن گیاه انجام شد و تنها دو گیاه در هر گلدان نگهداری شد و پس از گذشت نزدیک دو ماه هنگامی که گیاه به گام گلدهی رسید، برداشت گیاهان انجام شد. برای نمونه برداری از خاک و ریشه، پس از بریدن ساقه از جایگاه طوقه، خاک درون گلدان برگردانده شد و ریشه‌های گیاه نخود در هر گلدان جداسازی و برداشت شدند. بخشی از خاک‌ها هوا خشک و بخشی دیگر به گونه تازه و نمدار در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شد. شمار گره‌های ریزوبیومی ریشه در هر گلدان شمرده و وزن خشک آنها در دمای ۵۰ درجه سلسیوس پس از ۴۸ ساعت در آون اندازه‌گیری شد Khaghani and (Teymuri, 2012; Safari Sinegani et al. 2010).

بررسی درسد میکوریزی شدن ریشه گیاه

برای برآورد درسد و نرخ کلونیزاسیون ریشه، از ریشه‌های نخود نمونه برداری شد و نمونه‌های تازه ریشه به آزمایشگاه رسانده شدند. بدین گونه که ریشه‌ها به خوبی از خاک بیرون آورده شدند و از آنها ریشه هایی به قطر نزدیک ۲ میلی متر جداسازی شد. برای رنگ آمیزی ریشه‌ها از روش فیلیپس و هیمن (۱۹۷۰) به گونه زیر بهره‌گیری شد (Phillips and Hayman, 1970). در آغاز ریشه‌های گیاه میزبان قارچ میکوریز را درون لوله آزمایش ریخته و چندین بار با آب شستشو داده شدند. برای رنگ بری و روشن شدن ریشه ها، آنها برای ۴۵ دقیقه در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درسد در بن ماری در حال جوش گذاشته شدند. زمان و دمای روشن‌سازی به تیپ ریشه بستگی دارد، برای نمونه ریشه‌های نازک در دمای کمتر یا زمان کوتاه تری رنگ بری می‌شدند. ریشه‌ها چند بار با آب مقطر شسته شدند تا هیدروکسید پتاسیم به خوبی از ریشه‌ها جدا شود. برای خنثی‌سازی با اسید، ریشه‌ها برای ۵-۳ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درسد گذاشته شدند. برای رنگ آمیزی، ریشه‌ها در محلول ۰/۰۵ درسد آنیلین بلو گذاشته شد. شستشو و رنگ بری ریشه‌ها در محلول گلیسرول انجام شد. پس از این گام ریشه‌ها رنگ خود را از دست داده و تنها اندام قارچی به رنگ آبی دیده شد.برای ارزیابی درسد کلونیزاسیون ریشه‌ها از روش برخورد ریشه با خطوط مشبک[۵] بهره‌گیری شد (Giovannetti and Mosse, 1980). ریشه‌های رنگ

[۵] - Grid-line intersect method

آمیزی شده به گونه تصادفی در درون ظرف پتری پخش شدند. سپس زیر لوپ آزمایشگاهی و با کمک کاغذ شطرنجی اندازه همزیستی ریشه ارزیابی شد. شمار نقاطی از ریشه که با خطوط عمودی و افقی برخورد کرده بودند، شمرده شدند. سپس نقاطی از ریشه که آبی پررنگ تر داشتند (هیف، وزیکول و آربوسکول داشتند) نیز شمرده شدند. در پایان از بخش کردن این عدد (شمار نقاطی از ریشه که آبی پررنگ تر داشتند) بر کل برخوردهای ریشه با خطوط مشبک و سپس ضرب کردن در ۱۰۰، درسد میکوریزی شدن ریشه گیاه برآورد شد، این کار برای همه ریشه‌ها در سه تکرار انجام شد.

شمارش اسپور گلومال‌ها در خاک

اسپور قارچ‌های همزیست گلومرال‌ها در خاک با بهره‌گیری از روش سانتریفوژ در محلول شکری جداسازی و شمارش شدند (Daniels and Skipper, 1982).

اندازه‌گیری گلومالین آسان عصاره‌گیری شونده (EEG)[۶] و همه گلومالین (TG)[۷] خاک

برای اندازه‌گیری EEG و همه گلومالین TG خاک از روش Wright و Upadhyaya (1996) بهره‌گیری شد. برای عصاره‌گیری EEG یک گرم خاک (گذرانده شده از غربال ۲ میلی متری) را درون لوله سانتریفیوژ (اتوکلاو شدنی) گذاشته و ۸ میلی لیتر محلول سیترات سدیم ۲۰ میلی مولار به آن افزوده و ۳۰ ثانیه ورتکس شد. سپس برای ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد اتوکلاو شد. سپس با دور ۵۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و آبگونه رویین[۸] در لوله تمیز ریخته شد. برای عصاره‌گیری TG، ۸ میلی لیتر از محلول سیترات سدیم ۵۰ میلی مولار بر روی همان نمونه خاک (از گام پیش) افزوده شد و ۳۰ ثانیه ورتکس شد، گام‌های دیگر کار همانند عصاره‌گیری EEG بود. آبگونه رویین گردآوری شد و سپس اندازه گلومالین عصاره پالایش شده با بهره‌گیری از روش Bradford (1976) و استانداردهای آلبومین سرم گاوی در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. جمع گلومالین عصاره‌گیری در دو گام همه گلومالین خاک خواهد بود.

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش آزمایشی سه فاکتوره بود که در آن فاکتور یکم (C) کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در چهار اندازه ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درسد، فاکتور دوم (M) مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزی در سه تیمار *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis* و بدون آنها (گواه) و فاکتور سوم (R) مایه‌زنی با باکتری *Mesorhizobium ciceri* و بدون آن (گواه) بود. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های این پژوهش از طرح آماری کاملا تصادفی بهره‌گیری شد. بر پایه یافته‌های تجزیه واریانس برای آزمون میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در پایه آماری ۵ درسد بهره‌گیری شد. پردازش داده‌های هر ویژگی بررسی شده با نرم افزار Excel و آزمون‌های آماری به کمک نرم افزار SAS انجام شد.

یافته‌ها و بحث

برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه‌برداری شده و خاکستر بکاررفته در این پژوهش در جدول ۱ آمده است. اندازه شن خاک بکار رفته در آزمایش ۷۶ درسد، سیلت ۱۸ درسد و رس آن ۶ درسد بود. بنابراین خاک نمونه‌برداری شده دارای بافت لوم شنی بوده است.

---

۶ - Easily extractable glomalin (EEG)

۷ - Total glomalin (TG)

۸ Supernatant

اسیدیته کارا (pH)، اندازه گنجایش تبادل کاتیونی (CEC) و پتاسیم فراهم در خاک نمونه‌برداری شده بالاتر از خاکستر زغال‌سنگ می‌باشد، ولی اندازه رسانندگی الکتریکی، کربنات کلسیم همسنگ، کربن آلی و فسفر فراهم در خاکستر زغال‌سنگ بالاتر از خاک نمونه‌برداری شده بود.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه برداری شده

نمونه	بافت	pH	EC ($dS\ m^{-1}$)	CEC ($Cmolc\ kg^{-1}$)	آهک معادل %	کربن آلی %	فسفر فراهم ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم فراهم ($mg\ kg^{-1}$)
خاک	لوم شنی	۸/۲۳	۰/۱۳	۶/۲۳	۳/۹	۰/۳۹	۴/۷۴	۳۱۵
خاکستر	-	۷/۱۸	۰/۶۳	۲/۱۸	۸	۱/۷۷	۶/۴۰	۱۶۰

گره ریزوبیومی

پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ، مایه‌زنی میکوریزا و مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* و برهم کنش‌های دوگانه و سه گانه این تیمارها بر وزن و شمار گره ریزوبیومی ریشه گیاه در هر گلدان در پایه آماری ۰/۱. چشم‌گیر شد (جدول ۲). همانگونه که در جدول ۳ دیده می‌شود در هیچ یک از گلدان‌های بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* ریشه‌های نخود گره‌زایی نداشت. این یافته نشان از آلوده نشدن خاک و گیاه به این باکتری‌ها در گلدان‌های سترون شده دارد. بالاترین میانگین شمار گره‌های ریزوبیومی در هر گلدان مایه‌زنی شده با *Mesorhizobium ciceri* (۴۱/۶۶) در تیمار خاکستر زغال‌سنگ ۲/۵ درسد و تیمار مایه‌زنی *Funneliformis mosseae* بود و کمترین شمار گره‌های ریزوبیومی در هر گلدان (۳/۶۶) در تیمار ۱۰ درسد خاکستر زغال‌سنگ و بدون مایه‌زنی میکوریزا بود. به گونه‌ای که در تیمار خاکستر زغال‌سنگ در اندازه‌های ۵ و ۱۰ درسد در برخی ریشه‌ها گره‌ای یافت نشد. میانگین شمار گره‌های ریزوبیومی بر ریشه نخود در میان سویه‌های میکوریزا (*Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis*) ناهمانندی چشم‌گیری نداشت.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ (C)، مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزی (M) و *Mesorhizobium ciceri* (R) بر برخی شناسه‌های همزیستی نخود سپید با ریزجانداران

منبع دگرش	درجه آزادی	شمار گره ریزوبیومی	وزن گره ریزوبیومی	درسد کلونیزاسیون	شمار اسپور	TG	EEG
(C)	۳	۷۳۴/۶**	۰/۱۲۹**	۷۷۱/۴**	۵۱۳۱۹**	۹۵۲۶۳**	۷۴۱۳۰**
(M)	۲	۶۶/۳**	۰/۰۰۴**	۸۱۵۹**	۲۸۳۴۰۷**	۳۴۰۹۱۰**	۱۵۶۹۹۸**
(R)	۱	۷۲۶۰/۱**	۱/۳۷**	۱۳۹/۴**	۱۵۱۶۷**	۲۴۶۴۸**	۱۹۶۴۱**
C*M	۶	۶۵/۹**	۰/۰۰۸**	۲۰۰/۳**	۱۳۸۶۰**	۳۱۲۵۸**	۲۵۲۰۳**
C*R	۳	۷۳۴/۶**	۰/۱۲**	۲/۴ ns	۱۴۳۵/۸ ns	۲۶۹۵*	۳۵۹۷**
M*R	۲	۶۶/۳**	۰/۰۰۴**	۴۷/۹*	۴۵۱۲/۳**	۷۹۷۳**	۷۶۳۲**
C*M*R	۶	۶۵/۹**	۰/۰۰۸**	۱۰/۲ns	۲۰۵۳/۵*	۲۵۳۴**	۲۷۰۲**
خطا	۴۸	۱۱/۰۵	۰/۰۰۰۷	۱۰/۷	۸۱۵/۴۵	۸۷۶/۹۳	۷۴۹/۹۳
ضریب دگرش‌ها		۳۳/۱۱	۱۹/۳۶	۱۵/۳۸	۲۲/۸۹	۱۲/۹۶	۱۸/۴۳

ns نشان دهنده چشم‌گیر نبودن، * و ** به ترتیب نشان دهنده چشم‌گیر بودن در پایه آماری۵ و ۱ درسد می‌باشد. TG همه گلومالین خاک و EEG گلومالین آسان عصاره‌گیری شونده خاک

بیشترین وزن گره (۰/۵ گرم در هر گلدان) و کمترین آن (۰/۰۲ گرم در هر گلدان) به ترتیب در تیمار خاکستر ۲/۵ درسد با مایه‌زنی میکوریزی و تیمار خاکستر ۱۰ درسد بدون مایه‌زنی میکوریز بود. وزن گره‌های ریزوبیومی

در تیمار ۱۰ درسد خاکستر زغال‌سنگ میان ریشه‌های مایه‌زنی شده با میکوریزا و ریشه‌های مایه‌زنی نشده ناهمانندی چشم‌گیری وجود نداشت (جدول ۳).این بخش از پژوهش نشان داد که مایه‌زنی و کاربرد خاکستر زغال‌سنگ پیامد چشم‌گیری بر گره‌زایی مزوریزبیوم‌های بکار رفته در کشت نخود سپید دارد. اگر چه میان گونه‌های گلوموس بکاررفته ناهمانندی چشم‌گیری دیده نمی شود ولی کاربرد هر دو در خاک مایه بهبود گره‌زایی در گیاه خود شدند. از سوی دیگر کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در اندازه کم (۲/۵ درسد) در خاک مایه بهبود همزیستی گیاه با *Mesorhizobium ciceri* و گره‌زایی آن در برابر گواه بدون خاکستر شد ولی کاربرد بیش از آن (۵ و ۱۰ درسد) مایه کاهش همزیستی آنها و گره‌زایی شد.در پژوهشی پیامد مایه‌زنی دوگانه میکوریزا و ریزوبیوم بر کارکرد گیاه لوبیا در یک زمین کشاورزی بررسی و گزارش شد که شمار گره‌ها بر ریشه اصلی در کاربرد میکوریزا و سویه *Rhizophagus irregularis* و بدون مایه‌زنی ریزوبیوم بیشترین است (Safapur et al., 2012). در برابر آن شمار گره‌ها بر ریشه اصلی گیاه در تیمار میکوریزا و سویه *Rhizophagus irregularis* و مایه‌زنی ریزوبیوم کمترین بود. در این پژوهش کاربرد قارچ‌های میکوریزی و مایه‌زنی گیاه با ریزبیوم در برابر ریزجانداران بومی خاک ناکارآمد بوده اند. در برابر آن همراستا با یافته‌های این پژوهش Geneva و همکاران (2006) نشان داند که کاربرد میکوریزا و ریزوبیوم در کشت نخود مایه افزایش وزن خشک گیاه، نرخ فتوسنتز، ساخت گره‌های همزیست در ریشه و افزایش فعالیت تثبیت نیتروژن می‌شود. هر چند که کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در اندازه کم (۲/۵ درسد) مایه بهبود گره‌زایی با *Mesorhizobium ciceri* های بکاررفته شد ولی گزارش شده است که پی اچ بالا و اندازه‌های عناصر سنگین فراهم بالا در خاکستر زغال‌سنگ می‌تواند پیامد زیانباری برای ریزجانداران خاک که تثبیت نیتروژن می‌کنند، داشته باشد و مایه شکست فرایند گره‌زایی با ریزوبیوم‌ها شود (Cheung et al., 2000). این شاید کاهش گره‌زایی *Mesorhizobium ciceri* در کاربرد خاکستر زغال در اندازه بیشتر (۵ و ۱۰ درسد) را نشان دهد. گزارش شده است که فراوانی دانه‌های هم اندازه سیلت در خاکستر به سیمانی شدن خاک‌ها کمک می‌کند، که با تهویه بد خاک مایه کاهش اکسیژن برای ریزوبیوم‌ها شده و مایه کاهش فرایند گره‌زایی می‌شود (Pandey and Singh, 2010).

جدول ۳- آزمون میانگین شمار و وزن گره‌های ریزوبیومی بر ریشه گیاه نخود در تیمارهای خاکستر زغال‌سنگ، مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزی و *Mesorhizobium ciceri*

تیمار	شمار گره ریزوبیومی	انحراف معیار	وزن گره ریزوبیومی(گرم)	انحراف معیار
$C_1 M_1 R_1$	۱۹/۶۶ de	۳/۰۵	۰/۳۱ de	۰/۰۳
$C_1 M_1 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_1 M_2 R_1$	۳۳/۳۳ abc	۵/۰۳	۰/۴۰ bc	۰/۰۱
$C_1 M_2 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_1 M_3 R_1$	۲۹/۰۰ bcd	۳/۴۶	۰/۳۹ bcd	۰/۰۲
$C_1 M_3 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_2 M_1 R_1$	۲۳/۰۰ cde	۴/۵۸	۰/۳۵ cde	۰/۰۲
$C_2 M_1 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_2 M_2 R_1$	۴۱/۶۶ a	۳/۲۱	۰/۵۰ a	۰/۰۲
$C_2 M_2 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_2 M_3 R_1$	۳۶/۳۳ ab	۵/۵۰	۰/۴۷ ab	۰/۰۳
$C_2 M_3 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_3 M_1 R_1$	۱۹/۰۰ de	۴/۰۰	۰/۳۰ e	۰/۰۲
$C_3 M_1 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_3 M_2 R_1$	۸/۰۰ fg	۴/۳۵	۰/۱۱ f	۰/۰۱
$C_3 M_2 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_3 M_3 R_1$	۱۴/۶۶ ef	۲/۰۸	۰/۲۷ e	۰/۰۲
$C_3 M_3 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_4 M_1 R_1$	۳/۶۶ g	۶/۳۵	۰/۰۲ g	۰/۰۴
$C_4 M_1 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_4 M_2 R_1$	۷/۶۶ fg	۷/۵۰	۰/۰۸ fg	۰/۰۷
$C_4 M_2 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰
$C_4 M_3 R_1$	۵/۰۰ fg	۴/۵۸	۰/۰۶ fg	۰/۰۵
$C_4 M_3 R_2$	۰ g	۰	۰ g	۰

C_1، C_2، C_3 و C_4 به ترتیب تیمار کاربرد خاکستر در اندازه های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد؛ M_1 تیمار بدون مایه‌زنی قارچ ، M_2 و M_3 به ترتیب تیمار مایه‌زنی قارچ *Funneliformis mosseae* و مایه‌زنی قارچ *Rhizophagus irregularis*؛ R_1 و R_2 به ترتیب تیمار مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* و تیمار بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* (درهر ستون میانگین‌های با حروف یکسان ناهمانندی چشم‌گیری ندارند).

به هر گونه کاربرد خاکستر زغال‌سنگ (در اندازه کم) برای افزایش نیتروژن خاک در کشت گیاهان در زمین‌های نابارور سودمند است (Vajpayee et al., 2000). Rezae و همکاران (2023) گزارش کردند که کاربرد خاکستر بادی زغال‌سنگ در اندازه کم ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و شناسه‌های رشدی گیاه را بهبود می‌دهد. ولی کاربرد اندازه-های بالاتر (۲۵٪) آن، مایه پیدایش تنش‌های اکسیداتیو و کاهش رشد گیاه می‌گردد.

درسد میکوریزی شدن ریشه

تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده از بررسی درسد میکوریزی شدن ریشه نشان داد که پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در خاک، مایه‌زنی گیاه به قارچ‌های میکوریزی و باکتری *Mesorhizobium ciceri* بر درسد کلونیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزیی در پایه آماری ۰/۰۱ چشم‌گیر بود. پیامد برهم کنش کاربرد خاکستر و مایه‌زنی میکوریزا بر درسد میکوریزی شدن ریشه در پایه آماری ۰/۰۱ چشم‌گیر بود و همچنین پیامد برهم کنش مایه‌زنی میکوریزا و *Mesorhizobium ciceri* بر این همزیستی در پایه آماری ۰/۰۵ چشم‌گیر بود. ولی پیامد برهم کنش سه گانه این تیمارها بر ا درسد میکوریزی شدن ریشه گیاه چشم‌گیر نبود (جدول ۲).جدول ۴ نشان می‌دهد که در هیچ یک از گلدان‌های بدون مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزی ریشه‌های نخود در خاک سترون شده همزیستی میکوریزایی نداشت. این یافته نشان از آلوده نشدن خاک و گیاه به این قارچ‌ها دارد. بیشترین اندازه کلونیزه شدن ریشه مایه‌زنی شده با این قارچ‌ها (۴۴/۴۱ درسد) در تیمار خاکستر زغال‌سنگ در اندازه ۲/۵ درسد و مایه‌زنی با قارچ *Rhizophagus irregularis دیده شد* و کمترین آن (۱۸/۸۱ درسد) در تیمار خاکستر ۱۰ درسد و مایه‌زنی با *Funneliformis mosseae* بدست آمد. اگرچه درسد میکوریزی شدن ریشه با *Rhizophagus irregularis* کمی بیشتر بود ولی از دیدگاه آماری درسد میکوریزی شدن ریشه با گونه‌های *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis* در هر یک از تیمارهای خاکستر زغال‌سنگ ناهمانندی چشم‌گیری نداشت (جدول ۴). همراستا با این پژوهش Channabasava و همکاران (2015) گزارش دادند که بیشترین درسد کلونیزاسیون ریشه در تیمار ۲ درسد خاکستر زغال‌سنگ دیده شد و در این پژوهش همچنین با افزایش درسد خاکستر زغال‌سنگ درسد میکوریزی شدن ریشه کاهش یافت. با افزایش خاکستر زغال‌سنگ بکاررفته از درسد کلونیزاسیون ریشه با قارچ آربوسکولار میکوریزا در نهال‌های زیتون کاسته شد، به گونه‌ای که بالاترین درسد کلونیزاسیون (۹۰ درسد) در تیمار بدون خاکستر زغال و مایه‌زنی شده با قارچ آربوسکولار میکوریزا یافت شد و در کاربرد خاکستر ۵ ، ۱۰ و ۱۵ درسد، اندازه کلنیزاسیون به ترتیب ۸۴/۶۷ ، ۸۱/۳۳ و ۶۰/۰۰ درسد بود. گزارش شده است که خاکستر زغال‌سنگ دارای فسفر محلول بالایی است که خود می‌تواند مایه کاهش درسد میکوریزی شدن ریشه شود (Budi and Christina, 2013).

جدول ۴- آزمون میانگین درسد میکوریزی شدن ریشه نخود در تیمارهای قارچ‌های میکوریزی و خاکستر زغال‌سنگ

تیمار	درسد کلونیزاسیون ریشه	انحراف معیار
C_1M_1	۰ e	۰
C_1M_2	۳۰/۷۰ b	۱/۹۰
C_1M_3	۳۱/۲۶ b	۵/۷۲
C_2M_1	۰ e	۰
C_2M_2	۴۴/۳۰ a	۳/۳۲
C_2M_3	۴۴/۴۱ a	۳/۹۷
C_3M_1	۰ e	۰
C_3M_2	۳۳/۲۲ b	۴/۸۶
C_3M_3	۳۰/۸۵ b	۳/۱۴
C_4M_1	۰ e	۰
C_4M_2	۱۸/۸۱ c	۴/۲۷
C_4M_3	۲۱/۹۰ c	۶/۹۷

C_1، C_2، C_3 و C_4 به ترتیب تیمار کاربرد خاکستر در اندازه های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درسد؛ M_1 تیمار مایه‌زنی نشده قارچ ، M_2 و M_3 به ترتیب تیمار مایه‌زنی قارچ *Funneliformis mosseae*و مایه‌زنی قارچ *Rhizophagus irregularis* (درهر ستون میانگین‌های با حروف یکسان ناهمانندی چشم‌گیری ندارند).

درسد میکوریزی شدن ریشه با هر یک از قارچ‌ها در تیمارهای مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بیشتر از آن در تیمارهای بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بود (جدول ۵)؛ به گونه‌ای این پیامد سودمند *Mesorhizobium ciceri* بر میکوریزایی شدن ریشه با قارچ *Rhizophagus irregularis* از دیدگاه آماری در پایه ۵٪ چشم‌گیر بود. شکل ۱ نمایی از ریش‌های رنگ آمیزی شده در تیمارهای *Funneliformis mosseae* و اینترارادیسز در گلدان‌های مایه‌زنی شده با *Mesorhizobium ciceri* را نشان می‌دهد. هر دو قارچ دارای هیف‌های راست در درون ریشه با وزیکول‌های فراوان بوده و از دیدگاه ریخت شناسی به گونه آروم[۹] هستند.

بررسی‌های پیشین نشان داده است که میکوریزی شدن ریشه و همزیستی با قارچ آربوسکولار میکوریزا، بستگی به اندازه فسفر محلول در خاک دارد، به گونه‌ای که با افزایش اندازه فسفر محلول در خاک، از اندازه کلنیزاسیون ریشه کاسته می‌شود (Sabannavar and Lakshman, 2009; Bedini et al., 2013; Safari-Sinegani and Elyasi-Yeganeh, 2017; Polcyn et al., 2019; Nadian Ghomsheh, 2024). هر چه نیاز گیاه به فسفر بیشتر باشد درسد میکوریزی شدن آن بیشتر می‌شود و شاید پیامد سودمند مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بر میکوریزایی شدن ریشه، وابسته به افزایش نیاز گیاه به فسفر باشد. زیرا این باکتری از راه‌های گوناگونی و بویژه تثبیت نیتروژن مایه افزایش رشد گیاه شده و نیاز فسفری گیاه را افزایش می‌دهد.Smith و Read (2008)نشان دادند که هنگامی که فسفر محلول در خاک پایین تر است، تراوایی پرده یاخته‌های مویین ریشه گیاه بیشتر بوده و این مایه تراوش بهتر اسیدهای آمینه و قندها در ریزوسفر و در پی آن کلونیزه شدن بیشتر ریشه گیاه می‌شود. گیاهان دارای همزیستی ریزوبیومی، قند و اسید آمینه بیشتری در خاک تراوش کرده که می تواند مایه رشد و گرایش بیشتر قارچ‌های میکوریزی برای همزیستی با گیاه شود. این یافته خود نیاز به بررسی ویژه‌ای دارد. از سوی دیگر Pourmirzaei و همکاران (2021) با بررسی پیامد کاربرد چهار گونه‌ی بومی *Streptomyces griseus*، *S. albogriseus*، *S.* sp1 و *S.* sp2 بر همزیستی قارچ *Rhizophagus irregularis* با گیاه شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum*) و رشد آن گزارش کردند که

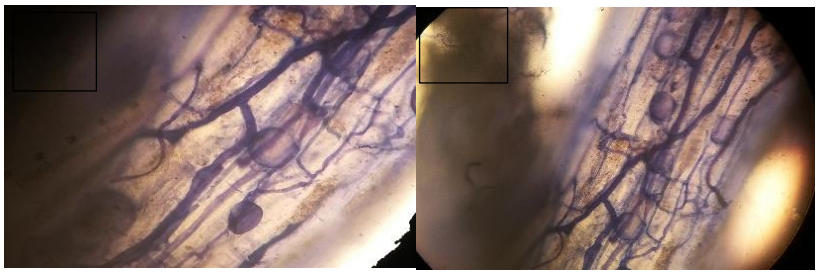
[۹] Arum type

کاربرد هر یک از این اکتینوباکتری‌ها مایه افزایش چشم‌گیر درسد همزیستی ریشه با قارچ میکوریزی و شناسه‌های رشد گیاه شده است. همچنین توانایی قارچ میکوریزی در افزایش جذب فسفر در گیاه و افزایش رشد ریشه و اندام هوایی آن در تیمارهای اکتینوباکتری‌ها به گونه چشم گیری افزایش یافته است.

جدول ۵- آزمون میانگین درسد میکوریزی شدن ریشه نخود در تیمارهای قارچ‌های میکوریزی و مایه‌زنی با *Mesorhizobium ciceri*

تیمار	درسد کلونیزاسیون ریشه	انحراف معیار
$M_1 R_1$	۰^{c}	۰
$M_1 R_2$	۰^{c}	۰
$M_2 R_1$	۳۳/۱۰^{ab}	۹/۸۶
$M_2 R_2$	۳۰/۴۱^{b}	۱۰/۱۶
$M_3 R_1$	۳۴/۹۳^{a}	۹/۴۸
$M_3 R_2$	۲۹/۲۸^{b}	۹/۰۶

M_1 تیمار مایه‌زنی نشده قارچ ، M_2 و M_3 به ترتیب تیمار مایه‌زنی قارچ *Funneliformis mosseae* و مایه‌زنی قارچ *Rhizophagus irregularis*، R_1 و R_2 به ترتیب تیمار مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* و تیمار بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* (درهر ستون میانگین‌های با حروف یکسان ناهمانندی چشم‌گیری ندارند).



شکل ۱- ریشه رنگ آمیزی شده میکوریزی نخود سپید در تیمار ۲/۵ درسد خاکستر الف- مایه‌زنی شده با *Funneliformis mosseae*، و ب- مایه‌زنی شده با *Rhizophagus irregularis*

فراوانی اسپور گلومال‌ها در خاک

تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده از شمارش اسپور گلومال‌ها در خاک نشان داد که پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ، مایه‌زنی میکوریزا و *Mesorhizobium ciceri* بر فراوانی اسپور قارچ میکوریزا در خاک در پایه آماری ۰/۱. چشم‌گیر بود. همچنین پیامد برهم کنش دو گانه کاربرد خاکستر و میکوریزا بر این ویژگی در پایه آماری ۰/۱. چشم‌گیر شد. ولی پیامد برهم کنش دو گانه مایه‌زنی میکوریزا و *Mesorhizobium ciceri* و پیامد برهم کنش سه گانه تیمارها بر فراوانی اسپور گلومال‌ها در خاک در پایه آماری ۰/۵. چشم‌گیر شد. تنها پیامد برهم کنش دو گانه کاربرد خاکستر و مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بر فراوانی اسپور این قارچ‌ها در خاک از دیدگاه آماری نبود (جدول ۲). یافته‌های آزمون میانگین فراوانی اسپور گلومال در خاک در تیمار خاکستر زغال‌سنگ به کار برده شده در اندازه ۲/۵ درسد (در هریک از تیمارهای مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* و قارچ) بیشتر از آن در دیگر تیمارهای خاکستر زغال‌سنگ و گواه آزمایش (بدون خاکستر) بود. این تیماری از خاکستر است که در آن گیاه نخود بهترین رشد را داشت (در اینجا گزارش نشده است). فراوانی اسپور گلومال‌ها در تیمارهای بدون کاربرد خاکستر (گواه آزمایش) و تیمار کاربرد خاکستر در اندازه ۵ درسد، ناهمانندی چشم‌گیری نداشت. کمترین شمار اسپور در خاک تیمار شده با ۱۰ درسد خاکستر زغال‌سنگ بدست آمد که این نشان از پیامد ناخواسته خاکستر

در اندازه‌های بالا در خاک دارد. روهمرفته بیشترین شمار اسپور (۳۲۱/۳۳ شمار در ۱۰ گرم خاک) در تیمار خاکستر در اندازه ۲/۵ درسد مایه‌زنی شده با قارچ *Funneliformis mosseae* و مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بدست آمد و کمترین شمار اسپور (۹۲/۶۷ شمار در ۱۰ گرم خاک) در تیمار خاکستر به اندازه ۱۰ درسد و مایه‌زنی شده با *Rhizophagus irregularis* و بدون *Mesorhizobium ciceri* بدست آمد. مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* مایه بیشتر شدن فراوانی اسپور این قارچ‌ها در خاک ریزوسفری شد. پس از برداشت گیاه نخود در خاک سترون بکار رفته در پژوهش در تیمارهای بدون مایه‌زنی قارچ میکوریز اسپوری یافت نشد (جدول ۶).

Channabasava و همکاران (2015) گزارش دادند که کاربرد ۲ درسد خاکستر زغال‌سنگ مایه افزایش شمار اسپورها در خاک می‌شود در برابر آن با افزایش درسد خاکستر زغال‌سنگ، شمار اسپورها کاهش می‌یابد به گونه‌ای که کمترین شمار اسپور در تیمار خاکستر ۶ درسد (بیشترین درسد خاکستر) گزارش شد. کاهش درسد کلونیزاسیون ریشه با قارچ میکوریز و کاهش شمار اسپور آنها در خاک در پاسخ به افزایش اندازه خاکستر زغال‌سنگ را می‌توان وابسته به ناشایست شدن ویژگی‌های خاک با خاکستر زغال‌سنگ دانست. خاکستر می‌تواند اندازه‌های عناصر غذایی، شوری، پ–اچ، فلزهای سنگین، فراوانی ریزجانداران خاک و کارکرد آنها را دگرگون کند و به شیوه‌های گوناگون در اندازه‌های بالا در خاک به گیاه آسیب بزند که به کاهش رشد و گسترش همزیستی میکوریزایی می‌انجامد. چناباسوا و همکاران (۲۰۱۵) همچنین گزارش کردند که میانگین شمار اسپور در خاک‌های مایه‌زنی شده با آربوسکولار میکوریزا بیش از دو برابر خاک‌های ناسترون مایه‌زنی نشده بود. Selvam و Mahadevan (2002) یک همبستگی مثبت میان کلونیزه شدن قارچ آربوسکولار میکوریزا و شمار اسپور را در کشت پیاز خوراکی در خاک بهسازی شده با ۲ درسد خاکستر زغال‌سنگ گزارش دادند. Garampalli و همکاران (2005) در یک آزمایش گلخانه‌ای با بهره‌گیری از نمونه خاک سترون و دارای فسفر کم، پیامد سه سطح خاکستر زغال‌سنگ (۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم خاکستر در یک کیلوگرم خاک) را بر آلودگی قارچ آربوسکولار میکوریزا از گونه گلوموس اگرگیتوم[10] در گیاه نخود کفتری را بررسی کردند. آنها دیدند که همه غلظت‌های به کار برده شده خاکستر زغال‌سنگ نشانه چشم‌گیری بر درسد کلونیزاسیون قارچ آربوسکولار میکوریزا داشت ولی غلظت بالاتر از ۳۰ گرم بر کیلوگرم خاک (۳٪) به گونه چشم‌گیری مایه سرکوب ساختمان قارچ شد. یافته‌های بدست آمده در این پژوهش با گزارش‌های بالا همخوانی دارد. کاربرد خاکستر زغال تا ۲/۵ درسد بر فراوانی اسپورها در خاک پیامد سودمند داشت ولی کاربرد اندازه‌های بیشتر خاکستر در خاک (بویژه ۱۰ درسد) پیامد زیانبار داشته است. مایه‌زنی با ریزوبیوم نیز همانند آنچه که در بررسی درسد میکوریزی شدن ریشه دیده شد، پیامد سودمندی بر فراوانی اسپورها در خاک داشت. این یافته با گزارش دیگران همخوانی دارد. Selvam و Mahadevan (2002) یک همبستگی مثبت و چشم‌گیری میان کلونیزه شدن ریشه با قارچ آربوسکولار میکوریزا و شمار اسپور آنها در کشت پیاز خوراکی در خاک بهسازی شده با ۲ درسد خاکستر زغال‌سنگ را گزارش کردند. گزارش شده است که کاربرد باکتری‌های همزیست ریزوبیوم و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) در خاک به تنهایی و خاک تیمار شده با خاکستر بادی در کشت عدس (*Lens culinaris* Medik) پیامدهای سودمندی در پی داشته است. در برابر دیگر پژوهش‌ها تیمار خاک با ۲۵٪ خاکستر بادی به گونه چشم‌گیری رشد گیاه را افزایش داد. مایه‌زنی میکروبی، رشد گیاه و پارامترهای

[10] *G.aggregatum*

فیزیولوژیکی گیاه را بیشتر افزایش داد. فراوانی گره و وزن تر آنها، درسد کلونیزاسیون ریشه با قارچ‌های میکوریزایی در گیاهان مایه‌زنی شده با این ریزجانداران به گونه چشم‌گیری بالاتر بود. ولی جذب فلزات سنگین به گونه چشم‌گیری در تیمار قارچ‌های میکوریزی کمتر بود (Shaher et al., 2024).

همه گلومالین خاک (TG) و گلومالین آسان عصاره‌گیری شونده (EEG)

اندازه خاکستر زغال‌سنگ، مایه‌زنی میکوریزا و *Mesorhizobium ciceri* بر همه گلومالین خاک (TG) در پایه آماری ۰/۰۱ پیامد چشم‌گیری داشت و پیامد برهم کنش‌های دوگانه و سه گانه این سه تیمار بر اندازه TG در پایه آماری ۰/۰۱ چشم‌گیر بود. از سوی دیگر تجزیه واریانس داده‌های گلومالین آسان اندازه‌گیری شونده (EEG) نشان داد که همانند آنچه در بررسی TG خاک بدست آمد، پیامد کاربرد خاکستر زغال‌سنگ، مایه‌زنی میکوریزا و *Mesorhizobium ciceri* و نیز پیامد کنش‌های دوگانه و سه گانه این سه تیمار بر اندازه EEG در پایه آماری ۰/۰۱ چشم‌گیر بود (جدول ۲). یافته‌های آزمون میانگین اندازه این گلیکوپروتئین در خاک (جدول ۶) نشان داد که بالاترین اندازه TG خاک (۵۲۹/۵۹ میکرو گرم بر گرم خاک) در تیمار خاکستر ۲/۵ درسد، مایه‌زنی قارچ *Funneliformis mosseae* و مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بدست آمد و کمترین اندازه آن (۱۶۷/۳۷ میکروگرم بر گرم خاک) در تیمار خاکستر ۱۰ درسد، مایه‌زنی *Rhizophagus irregularis* و بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بدست آمد. همانند درسد کلونیزاسیون ریشه و شمار اسپور قارچ در خاک، TG (در هریک از تیمارهای مایه‌زنی قارچ و *Mesorhizobium ciceri*) در تیمار خاکستر ۲/۵ درسد به اندازه چشم‌گیری بیشترین است. این گلیکوپروتئین‌ها در تیمارهای بدون کاربرد خاکستر (گواه) و تیمار خاکستر ۵ درسد با هم ناهمانندی چشم‌گیری ندارند. به هر گونه کاربرد خاکستر زغال‌سنگ در خاک به اندازه ۱۰ درسد پیامد زیانبار داشته و به اندازه چشم‌گیری از همزیستی قارچ‌ها با ریشه جلوگیری و ساخت گلومالین در خاک را کاهش داده است.

بالاترین اندازه EEG در خاک (۳۹۸/۴۸ میکرو گرم بر گرم خاک) همانند آنچه که در بررسی TG دیده شد، در تیمار خاکستر ۲/۵ درسد، مایه‌زنی قارچ *Funneliformis mosseae* و مایه‌زنی ریزوبیوم اندازه‌گیری شد و کمترین اندازه آن (۹۴/۱۸ میکروگرم بر گرم خاک) در تیمار خاکستر ۱۰ درسد، مایه‌زنی *Rhizophagus irregularis* و بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* بدست آمد. این نشان از پیامد سودمند خاکستر در اندازه‌های کم و پیامد زیانبار آن در اندازه‌های بالا بر همزیستی این قارچ‌ها با گیاه و ساخت گلومالین دارد که در این میان قارچ *Funneliformis mosseae* پایداری بیشتر و کارکرد بهتری داشته است و همزیستی *Mesorhizobium ciceri* با گیاه به آن کمک کرده اند. در بررسی چگونگی زیست بهسازی خاک یک کانسار زغال‌سنگ با کاربرد قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا (AMF) در کشت گیاه *آمورفا فروتیکوز*[11] از تیره لگوم‌ها دیده شد که ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک با گذشت زمان بهبود یافت. همه گلومالین خاک و EEG در خاک‌های تیمار شده با قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا به اندازه چشم‌گیری بیشتر از خاک‌های گواه (تیمار نشده) است (Qiu et al., 2019).

[11] *Amorpha fruticose L.*

جدول ۶- آزمون میانگین شمار اسپور گلومال‌ها (SN)، همه گلومالین (TG) خاک و گلومالین آسان عصاره‌گیری شونده (EEG) در تیمارهای خاکستر زغال‌سنگ، مایه‌زنی قارچ‌های میکوریزی و *Mesorhizobium ciceri* در کشت گلدانی نخود سپید.

تیمار	SN ($N\ 10\ g^{-1}$)	انحراف معیار	TG ($\mu g\ g^{-1}$)	انحراف معیار	EEG ($\mu g\ g^{-1}$)	انحراف معیار
$C_1\ M_1\ R_1$	۰ f	۰	۹۱/۱۶ lm	۳/۴۰	۶۲/۸۳ i	۹/۱۰
$C_1\ M_1\ R_2$	۰ f	.	۹۴/۴۵ lm	۱۵/۹۵	۶۳/۸۰ hi	۹/۶۷
$C_1\ M_2\ R_1$	۲۸۰/۶۷ ab	۲۰/۰۰	۳۷۶/۹۱ bcd	۴۲/۷۰	۲۶۲/۴۲ cd	۲۲/۰۶
$C_1\ M_2\ R_2$	۱۴۷/۶۷ de	۲۸/۱۴	۲۷۰/۰۱ fghi	۲۳/۸۸	۱۲۱/۶۸ fghi	۱۸/۴۲
$C_1\ M_3\ R_1$	۱۶۸/۰۰ de	۳۳/۵۱	۲۹۵/۷۵ defg	۱۵/۵۷	۱۷۳/۶۲ efg	۲۲/۷۳
$C_1\ M_3\ R_2$	۱۵۳/۳۳ de	۳۴/۹۶	۲۸۱/۴۴ efgh	۱۰/۸۰	۱۴۹/۷۳ fgh	۱۸/۶۰
$C_2\ M_1\ R_1$	۰ f	۰	۸۲/۵۱ m	۱۱/۲۵	۴۹/۱۸ i	۹/۲۶
$C_2\ M_1\ R_2$	۰ f	۰	۸۲/۶۰ m	۱۴/۲۲	۵۱/۵۸ i	۹/۷۸
$C_2\ M_2\ R_1$	۳۲۱/۳۳ a	۲۹/۱۴	۵۲۹/۵۹ a	۷۴/۶۵	۳۹۸/۴۸ a	۴۹/۱۴
$C_2\ M_2\ R_2$	۳۰۳/۰۰ a	۳۴/۶۹	۴۶۰/۹۸ ab	۳۱/۲۱	۳۶۶/۹۵ ab	۶۴/۹۶
$C_2\ M_3\ R_1$	۲۹۸/۳۳ a	۱۵/۸۲	۴۰۳/۴۴ bc	۵۳/۱۵	۲۸۳/۷۹ bc	۳۸/۹۸
$C_2M_3\ R_2$	۲۵۹/۳۳ abc	۵۵/۵۰	۳۷۴/۴۴ bcde	۵۷/۴۸	۲۸۳/۹۴bc	۳۹/۸۷
$C_3\ M_1\ R_1$	۰ f	۰	۹۲/۳۷ lm	۱۸/۸۲	۵۰/۴۳ i	۱۴/۶۷
$C_3\ M_1\ R_2$	۰ f	۰	۱۰۷/۳۷ klm	۲۴/۸۰	۶۳/۰۶ i	۲۲/۶۴
$C_3\ M_2\ R_1$	۱۷۸/۰۰ cde	۵۶/۹۲	۳۱۲/۲۸ cdefg	۲۲/۷۹	۱۸۳/۳۴ def	۵۱/۱۰
$C_3\ M_2\ R_2$	۱۳۴/۶۷ de	۴۳/۰۰	۲۲۵/۵۶ ghij	۲۴/۶۲	۱۰۴/۶۸ fghi	۸/۱۳
$C_3\ M_3\ R_1$	۲۰۰/۳۳ bcd	۳۴/۲۶	۳۲۶/۷۲ cdef	۳۳/۹۷	۲۴۲/۰۰ cde	۳۸/۴۲
$C_3\ M_3\ R_2$	۱۲۹/۶۷ de	۴۷/۳۷	۱۹۴/۹۱ hijk	۱۸/۹۳	۱۲۷/۱۴ fghi	۱۲/۳۴
$C_4\ M_1\ R_1$	۰ f	۰	۹۹/۴۶ lm	۱۲/۷۲	۵۲/۷۹ i	۱۰/۸۶
$C_4\ M_1\ R_2$	۰ f	۰	۹۱/۴۹ lm	۳۰/۸۳	۵۶/۱۲ i	۲۰/۰۰
$C_4\ M_2\ R_1$	۱۲۵/۳۳ de	۲۹/۰۹	۱۸۲/۹۲ ijkl	۱۱/۴۷	۱۱۴/۸۷ fghi	۱۳/۲۳
$C_4\ M_2\ R_2$	۱۰۲/۰۰ e	۱۷/۶۹	۱۶۸/۵۸ jklm	۶/۹۴۱	۱۰۱/۸۶ fghi	۸/۵۷
$C_4\ M_3\ R_1$	۹۸/۶۷ e	۲۰/۷۴	۱۷۰/۱۵ jklm	۸/۵۳	۱۰۷/۴۲ fghi	۱۰/۸۶
$C_4\ M_3\ R_2$	۹۲/۶۷ e	۲۳/۴۵	۱۶۷/۳۷ jklm	۶/۷۴	۹۴/۱۸ ghi	۱۶/۹۲

C_1، C_2، C_3 و C_4 به ترتیب تیمار کاربرد خاکستر در اندازه های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درسد؛ M_1 تیمار بدون مایه‌زنی قارچ ، M_2 و M_3 به ترتیب تیمار مایه‌زنی قارچ *Funneliformis mosseae*، مایه‌زنی قارچ *Rhizophagus irregularis*؛ R_1 و R_2 به ترتیب تیمار مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* و تیمار بدون مایه‌زنی *Mesorhizobium ciceri* (درهر ستون میانگین‌های با حروف یکسان ناهمانندی چشم‌گیری ندارند).

در باره نشانه سودمند ریزوبیوم‌ها بر ساخت و رهاسازی گلومالین در خاک نوشتاری یافت نشد ولی همانگونه که پیشتر یادآور شده این باکتری‌ها می‌توانند با بهبود همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزی و با افزایش رشد گیاه، مایه افزایش ساخت و تراوش این دسته از پروتئین‌ها در خاک شوند. به هر گونه در خاک‌های سترون آزمایش شده در تیمارهای بدون مایه‌زنی میکوریزا نیز به اندازه‌های کمتری گلومالین بدست آمد (جدول ۶) که این اندازه‌ها می‌تواند وابسته به پروتئین‌های خویشاوند با گلومالین خاک[۱۲] (GRSP) یا گلیکوپروتئین‌های ساخته شده و تراوش شده از گیاه نخود مایه‌زنی شده یا نشده با *Mesorhizobium ciceri* باشد. گذشته از آن، این بخش می‌تواند وابسته به رهاسازی مواد آلی پپتیدی درون خاک هنگام سترون‌سازی آن در اتوکلاو نیز باشد. یادآور شود که در همه پژوهش‌ها آنچه که بنام گلومالین خاک اندازه گیری شده و گزارش می‌شود، پروتئین ویژه‌ای نیست. این شیوه اندازه‌گیری (روش Bradford (1976)) آمیخته‌ای از پروتئین‌های درون خاک را اندازه‌گیری می‌کند که می‌تواند در گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری‌های همزیست نیز افزایش یابد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند که کاربرد خاکستر زغال‌سنگ از گونه بیتومین در اندازه کم (۲/۵ ٪) مایه افزایش فراسنجه‌های (پارامترهای) زیستی چون فراوانی و وزن گره‌های *Mesorhizobium ciceri* بر ریشه گیاه نخود سپید، درسد میکوریزی شدن ریشه، شمار اسپور گلومال‌ها در خاک و گلومالین یا گلیکوپپتیدهای خاک شده می‌شود. دیده شد که در خاک‌های تیمار شده با ۵ و ۱۰ درسد خاکستر همه این شناسه‌های زیستی کاهش پیدا کرده‌اند. روهمرفته کاربرد بیش از اندازه خاکستر زغال‌سنگ پیامدهای زیانباری دارد و مایه کاهش همزیستی این گیاه با قارچ‌های گلوموس و *Mesorhizobium ciceri* در برابر گواه آزمایش می‌شود. اگر چه پاسخ دو قارچ بکاررفته ناهمانندی چندانی نداشت ولی قارچ *Funneliformis mosseae* در برابر پیامد بد خاکستر بردباری بیشتر و کارکرد بهتری از خود نشان داد. مایه‌زنی و کاربرد *Mesorhizobium ciceri* مایه افزایش همزیستی قارچ‌ها بویژه *Rhizophagus irregularis* با گیاه شد و از سوی دیگر مایه‌زنی و کابرد قارچ‌ها میکوریزی به افزایش گره‌زایی و همزیستی *Mesorhizobium ciceri* با گیاه نخود انجامید. بنابراین کاربرد ۲/۵ درسد خاکستر زغال بیتومینه در خاک برای رشد گیاه نخود و همزیستی آن با ریزجانداران سودمند است ولی کاربرد بیش از آن می‌تواند پیامدهای زیانباری برای رشد گیاه داشته باشد.

[۱۲] Glomalin-related soil protein (GRSP)

1. Ahmadzadeh, M., Sedaghati, E., Sabri-Riseh, R., Rahimi, A., MohammadiMirik, A.A. and Hatami, N. 2022. Effect of mycorrhizal fungi accompanied by some microorganisms and chemical compounds on growth and photosynthesis indices of corn. Soil Biology Journal, 10 (1), pp. 33-48.
2. Ansari, M.S., Ahmad, G., Khan, A.A., Mohamed, H.I., 2023. Coal fly ash application as an eco-friendly approach for modulating the growth, yield, and biochemical constituents of Withania somnifera L. plants. *Environment Science and Pollution Research International*. 30(37), pp. 87958-87980. https://doi.org/10.1007/s11356-023-28318-x.
3. Bedini, S., Avio, L. and Sbrana, C., 2013. Mycorrhizal activity and diversity in a long-term organic Mediterranean agroecosystem. Biology and Fertility of Soils, 49(6), pp.781–790. https://doi.org/10.1007/s00374-012-0770-6.
4. Begum, N., Xiao, Y., Wang, L., Li, D., Irshad, A., Zhao, T., 2023. Arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* alleviates drought stress in soybean with overexpressing the GmSPL9d gene by promoting photosynthetic apparatus and regulating the antioxidant system. Microbiological Research, 273, 127398. https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127398.
5. Bower, C.A., Reitmeir, R.F. and Fireman, M., 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. Soil Science, 73(4), pp.251–261. https://doi.org/10.1097/00010694-195204000-00001.
6. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1–2), pp.248–254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.
7. Budi, S.W. and Christina, F., 2013. The effects of coal waste powder amendment and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth of jabon (*Anthocephalus cadamba* Miq) seedling in Ultisol soil medium. Journal of Tropical Soil, 18(1), pp.59–66. https://doi.org/10.5400/jts.2013.18.1.59.
8. Channabasava, A., Lakshman, H.C. and Muthukumar, T., 2015. Fly ash mycorrhizoremediation through *Paspalum scrobiculatum* L., inoculated with *Rhizophagus fasciculatus*. Comptes Rendus Biologies, 338(1), pp.29–39. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2014.11.002.
9. Cheung, K.C., Wong, J.P.K., Zhang, Z.Q., Wong, J.W.C. and Wong, M.H., 2000. Revegetation of lagoon ash using the legume species *Acacia auriculiformis* and *Leucaena leucocephala*. Environmental Pollution, 109(1), pp.75–82.

https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00235-3.

10. Daniels, B.A. and Skipper, H.D., 1982. Methods and principles of mycorrhizal research. American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.
11. Ganjeali, A., Parsa, M. and Sabaghpour, S., 2008. Farming and agrosystems of pulses in pulses. JDM Press Iran.
12. Garampalli, R.H., Deene, S. and Narayana Reddy, C., 2005. Infectivity and efficacy of *Glomus aggregatum* and growth response of *Cajanus cajan* (L.) Millsp in fly ash amended sterile soil. Environmental Biology of Soils, 26(5), pp.705–708. PMID: 16459561.
13. Gebremariam, M., and Tesfay, T., 2021. Effect of P Application Rate and Rhizobium Inoculation on Nodulation, Growth, and Yield Performance of Chickpea (*Cicer arietinum L.*). *International Journal of Agronomy*, 2021, 8845489, https://doi.org/10.1155/2021/8845489.
14. Gee, G.W. and Bauder, J.W., 1986. Method of soil analysis part 1: Physical and mineralogical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
15. Geneva, M., Zehirov, G., Djonova, E., Kaloyanova, N., Georgiev, G. and Stancheva, I., 2006. The effect of inoculation of pea plants with mycorrhizal fungi and rhizobium on nitrogen and phosphorus assimilation. Plant Soil and Environment, 52(10), pp.435–440. https://doi.org/10.17221/3463-PSE.
16. Giovannetti, M. and Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist, 84(3), pp.489–500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x
17. Heydarizadeh, M., Naghavi, H. and Moghaadam, M.R., 2013. Study of the chemical, physical characteristics and reject coal fertility to use in the agriculture activities (case study: Coal washing plant Zarand-Kerman). Water and Irrigation Engineering, 4(4), pp.58–71.
18. Kochaki, A. and Banayan-Aval, M., 1993. Beans. Mashhad University Jahad Press, Iran.
19. Loeppert, R.H. and Suarez, D.L., 1996. Methods of soil analysis part 3: Chemical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
20. Mittra, B.N., Karmakar, S., Swain, D.K. and Ghosh, B.C., 2005. Fly ash a potential source of soil amendment and a component of integrated plant nutrient supply system. Fuel, 84(4), pp.1447–1451. . https://doi.org/10.1016/j.fuel.2004.10.019.
21. Morphy, J. and Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural water. Analytica Chimica Acta, 27, pp.31–36. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5.
22. Mukerji, K.G. and Chmola, B.P., 2003. Compendium of mycorrhiza research. A.P.H. Publisher, New Delhi.

23. Nadian Ghomsheh, H., 2024. Phosphorus uptake and transport mechanism in symbiotic plants with arbuscular mycorrhizal fungi (Knowns and unknowns). Soil Biology Journal, 12 (2), pp. 155-190. https://doi.org/10.22092/sbj.2024.366288.267.
24. Pandey, V.C. and Singh, N., 2010. Impact of fly ash incorporation in soil systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 136(1-2), pp.16-27. https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.11.013.
25. Phillips, J.M. and Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), pp.158-161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3.
26. Pichtel, J.R., 1990. Microbial respiration in fly ash/sewage sludge amended soils. *Environmental Pollution*, 63(3), pp.225-237. https://doi.org/10.1016/0269-7491(90)90156-7.
27. Polcyn, W., Paluch-Lubawa, E., Lehmann, T. and Mikuła, R., 2019. Arbuscular mycorrhiza in highly fertilized maize cultures alleviates short-term drought effects but does not improve fodder yield and quality. *Frontiers in Plant Science*, 10, p.1510. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00496.
28. Pourmirzaei, Z., Lakzian, A., Ali Asgharzad, N., Dehnad, A.R.and Hallajnia, A., Effects of Streptomycets on colonization and growth of white clover inoculated with arbuscular mycorrhiza. *Soil Biology Journal*, 9 (2), pp. 155-171. https://doi.org/10.22092/SBJ.2021.352206.208.
29. Qiu, L., Bi, Y., Jiang, B., Wang, Z., Zhang, Y. and Zhakypbek, Y., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi ameliorate the chemical properties and enzyme activities of rhizosphere soil in reclaimed mining subsidence in northwestern China. *Journal of Arid Land*, 11(1), pp.135-147. https://doi.org/10.1007/s40333-018-0019-9.
30. Rezaei Bisotoni, M., Ghorbani, J., Vahabzadeh, G., Hodjati, S.M., 2023. Physical and chemical characteristics of substrate material for plant growth on coal wastes in rangelands of Kiasar, Sari, Mazandaran province. *Journal of Rangeland*, 16(4), pp. 652-665. https://doi.org/20.1001.1.20080891.1401.16.4.1.9.
31. Roades, J.D., 1990. Methods of soil analysis part 3: Chemical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
32. Sabannavar, S.J. and Lakshman, H.C., 2009. Effect of rock phosphate solubilization using mycorrhizal fungi and phosphobacteria on two high yielding varieties of *Sesamum indicum* L. *World Journal of Agricultural Science*, 5(4), pp.470-479.
33. Saberi, A., Vahabzadekebriya, Gh., Hojjati, S.M., and Mosavi, S.R., 2023. The effect of coal mining on the accumulation of Pb and Zn and their spatial distribution in the surface soil of Komarzd. *Water and Soil*

Management and Modeling, 3(3), pp. 56-71. https://doi.org/10.22098/mmws.2022.11395.1128.

34. Safapur, M., Ardakani, M.R., Rejali, F., Khaghani, S. and Teymuri, M., 2012. Effect of co-inoculation of mycorrhiza and rhizobium on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Finding in Agriculture*, 6(1), pp.21-35.
35. Safari Sinegani, A.A., 2013. Soil biology and biochemistry. 4th ed. Bu-Ali Sina University Press Center, Iran.
36. Safari-Sinegani, A.A. and Elyasi-Yeganeh, M., 2017. The occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soil and root of medicinal plants in Bu-Ali Sina garden in Hamadan, Iran. *Biological Journal of Microorganism*, 5(20), pp.43-59. https://doi.org/10.22108/BJM.2017.21145.
37. Safari Sinegani, A.A., Sharifi, Z., Safari Sinegani, M. 2010. Methods in applied microbiology. Iran, Hamadan: Bu-Ali Sina University Press Center, Iran.
38. Selvam, A. and Mahadevan, A., 2002. Distribution of mycorrhizas in an abandoned fly ash pond and mined sites of Neyveli Lignite Corporation Tamil Nadu India. *Basic and Applied Ecology*, 3(3), pp.277-284. https://doi.org/10.1078/1439-1791-00107.
39. SFS-EN, 2000. The European standard SFS-EN 12879 characterization of sludges. Determination of loss on ignition of dry mass. Finnish Standards Association SFS, Finnish Environmental Institute. Helsinki, Finland.
40. Shaher, H., Naushin, F., Hasan, M., and Bagyaraj, D.J., 2024. Synergistic impact of Rhizobium and arbuscular mycorrhizal fungi on lentil plant tolerance to heavy metal-rich fly ash amended soil. *Discover Plants*, 9(1), 44372. https://doi.org/10.1007/s44372-024-00010-5
41. Singh, S.N., Kulshreshtha, K. and Ahmad, K.J., 1997. Impacts of fly-ash soil amendment on seed germination, seedling growth and metal composition of *Vicia faba*. *Ecological Engineering*, 9(3), pp.203-208. https://doi.org/10.1016/S0925-8574(97)10004-0.
42. Skaggs, T.H., Arya, L.M., Shouse, P.J. and Mohanty, B.P., 2001. Estimating particle-size distribution from limited soil texture data. *Soil Science Society of America Journal*, 65(4), pp.1038-1044. https://doi.org/10.2136/sssaj2001.6541038x.
43. Smith, S.E. and Read, D.J., 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3rd ed. Academic Press, London, UK.
44. Thomas, G.W., 1996. Methods of soil analysis part 3: Chemical methods. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
45. Vajpayee, P., Rai, U.N., Choudhary, S.K., Tripathi, R.D. and Singh, S.N., 2000. Management of fly-ash landfills with *Cassia surattensis* Burm: A case study. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(6), pp.675-682.

https://doi.org/10.1007/s0012800176
.

46. Walkley, A. and Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), pp.29-38.

47. Wright, S.F. and Upadhyaya, A., 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, 161(6), pp.575-586. http://dx.doi.org/10.1097/00010694-199609000-00003.