



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Biology<https://sbj.areeo.ac.ir/>**Research article**

The effect of *Bradyrhizobium* inoculation on nitrogen fixation, yield, and its components in soybean cultivars (*Glycine max* L.) under waterlogging stress

Serollah Galeshi¹ , Mitra Toloo Hafezian^{1*} , AbdolRahman Daz¹, and Ebrahim Zeinali¹

¹ Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Article Info**Extended Abstract****Received:** 2026-08-17**Accepted:** 2026-10-18**Keywords:**

Bradyrhizobium japonicum
bacteria,
Nodule Number,
Chlorophyll,
Grain yield

**Corresponding author's
email:**

mitra.toloo73@gmail.com

Doi:

10.22092/SBJ.2026.373894.2
99

Background and Objectives: Soybean (*Glycine max* L.) is widely recognized as one of the most important crops within the legume family, and it is undeniably one of the main sources of protein and vegetable oil in the world, and plays an exceptionally important role in human nutrition, animal feed, and the food industry. Despite the immense economic and nutritional importance of this plant, the occurrence of environmental stresses, especially flooding or waterlogging, can significantly reduce its overall growth and performance. Flooding disrupts root activity as well as water and nutrient absorption by severely reducing the available oxygen levels in the root zone, and consequently, it negatively affects the overall nutritional status of the plant by reducing root nodule activity and disrupting the vital process of biological nitrogen fixation. Therefore, the strategic use of symbiotic nitrogen-fixing bacteria, especially *Rhizobium* species, can be considered as one of the most effective biological solutions to reduce the adverse effects of this particular stress. Given the inherent genetic differences between soybean cultivars in their natural tolerance to flooding and their specific response to bacterial inoculation, identifying highly tolerant and efficient cultivars in terms of symbiosis with *Rhizobium* is of particular importance. Accordingly, this study was specifically conducted to evaluate the effect of waterlogging stress and *Rhizobium* inoculation on yield, yield components, and biological nitrogen fixation in selected soybean cultivars.

Materials and Methods: This research was conducted during the course of the 2022-2023 crop year as a controlled pot experiment at the Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. The experiment was carried out as a factorial arrangement structured within a completely randomized design with three replications. The experimental treatments included four distinct soybean cultivars, specifically including Sari, Saman, Ketul, and Amir; two levels of bacterial inoculation, specifically including active inoculation and no inoculation; and two levels of waterlogging stress, specifically including no flooding and flooding for a consecutive period of 15 days. The seeds designated for the inoculation treatment were inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* bacteria before the sowing process. Waterlogging stress was applied at the beginning of the flowering stage (referred to as the R1 developmental stage). At the end of the applied stress period, physiological traits including chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids; traits related to nitrogen nutrition status and biological nitrogen fixation including leaf nitrogen content, as well as the number and diameter of root nodules; as well as yield components including the total number and weight of pods, the number of seeds per pod, and the final grain yield were meticulously measured and compared. After collecting the experimental data, they were statistically analyzed using an analysis of variance (ANOVA) procedure and comparing the means of the treatments.

Results: The analytical results showed that waterlogging stress and bacterial inoculation, as well as their mutual interaction with the cultivar, had significantly different effects on the measured physiological traits, nitrogen fixation, and the ultimate soybean

yield. Under normal, non-stress conditions, *Rhizobium* inoculation increased the overall content of chlorophyll *a* and *b* in the majority of the evaluated cultivars; so that the highest proportional increase in chlorophyll *a* was observed in the Sari cultivar, and the highest increase in chlorophyll *b* was observed in the Saman cultivar. Also, bacterial inoculation successfully increased the content of carotenoids in all of the tested cultivars. Waterlogging stress substantially reduced photosynthetic pigments and leaf nitrogen, but the severity of this decrease was notably different across the different cultivars. Bacterial inoculation under waterlogging conditions was able to compensate for a significant part of the reduction in photosynthetic pigments. In terms of traits related to nitrogen fixation, *Rhizobium* inoculation increased the number of root nodules per plant under non-stress conditions in the Ketul and Amir cultivars from 12 to 28 and from 18 to 31 nodules, respectively. Under waterlogging conditions, the evaluated cultivars Ketul and Amir showed a more favorable response to the bacterial inoculation by successfully maintaining a higher number of functional root nodules. The detailed study of yield components also showed that the effect of inoculation on the number of pods was different in the different cultivars, and the response of the cultivars to waterlogging conditions was not the same across the board. Under non-stress conditions, bacterial inoculation increased the grain yield of the cultivar Sari from 28.6 to 68.4 g/plant; while a decrease in yield was observed in the cultivar Ketul. Also, under waterlogging conditions, bacterial inoculation increased the grain yield from 29.5 to 55.4 g/plant, indicating a clear and partial reduction in the overall stress-induced damage.

Conclusion: In general, waterlogging stress negatively affected the overall soybean yield by disrupting the essential photosynthetic activity, leaf nitrogen status, and the total number of active root nodules; however, the intensity of the physiological stress response and the degree of benefit derived from the bacterial inoculation varied among the tested cultivars. *Bradyrhizobium japonicum* inoculation helped to successfully maintain the optimum nitrogen nutrition status and effectively reduce the negative effects of waterlogging stress by improving some key physiological traits and increasing the overall capacity for nodulation. Among the cultivars that were studied, the Sari cultivar showed better performance in terms of maintaining photosynthetic pigments and sustaining final grain yield, and the Ketul and Amir cultivars showed better performance in terms of nodulation efficiency and positive response to the applied bacterial inoculation. Therefore, selecting an appropriate cultivar along with using *Bradyrhizobium japonicum* inoculation can be highly recommended as an effective and practical strategy to increase soybean tolerance to waterlogging stress and to significantly improve production sustainability under environmental conditions that are susceptible to this type of stress.

Cite this article: Galeshi, S., Toloo Hafezian, M., Daz, A. Zeinali, E., 2026. The effect of *Bradyrhizobium japonicum* inoculation on nitrogen fixation, yield and its components in soybean cultivars (*Glycine max* L.) under waterlogging stress. Research article *Journal of Soil Biology*, 14 (1),129-150.



DOI: 10.22092/SBJ.2026.373894.299

Publisher: Soil Science Society of Iran



مقاله پژوهشی

اثر تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم بر تثبیت نیتروژن، عملکرد و اجزای عملکرد ارقام

سویا (*Glycine max L.*) تحت تنش غرقابیسرا له گالشی^۱، میترا طلوع حافظیان^{۱*}، عبدالرحمان داز^۱ و ابراهیم زینلی^۱^۱ گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۲۶ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۲۵

چکیده

سویا (*Glycine max L.*) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی لگومی، نقش اساسی در تأمین پروتئین و روغن گیاهی دارد، اما تنش غرقابی با ایجاد اختلال در تثبیت بیولوژیک نیتروژن و فعالیت‌های فیزیولوژیک، رشد و عملکرد آن را محدود می‌کند. این پژوهش با هدف ارزیابی اثر تنش غرقابی و تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم بر عملکرد، اجزای عملکرد و تثبیت بیولوژیک نیتروژن در چهار رقم سویا (ساری، سامان، کتول و امیر) در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ به صورت آزمایش گلدانی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و سه تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارها شامل دو سطح تنش غرقابی (عدم غرقابی و غرقابی ۱۵ روزه در مرحله آغاز گلدهی) و دو سطح تلقیح باکتری (تلقیح و عدم تلقیح) بودند. نتایج نشان داد تلقیح باکتری موجب بهبود صفات فیزیولوژیک و تثبیت نیتروژن شد؛ به طوری که در شرایط بدون تنش، کلروفیل a و b به ترتیب تا ۸۹ و ۷۴ درصد افزایش یافت. همچنین تعداد گره در رقم کتول از ۱۲ به ۲۸ و در رقم امیر از ۱۸ به ۳۱ گره در بوته رسید. تنش غرقابی عملکرد دانه را کاهش داد، در حالی که تلقیح باکتری خسارت تنش را جبران کرد و عملکرد دانه را از ۴/۵۵ به ۵/۲۹ گرم در بوته (حدود ۱۶ درصد) افزایش داد. بیشترین پاسخ به تلقیح در رقم ساری (افزایش ۳۴ درصدی نسبت به عدم تلقیح) مشاهده شد، ولی بیشترین عملکرد دانه (۶/۵۶ گرم در بوته) در رقم امیر ثبت گردید. به طور کلی، تلقیح باکتری با بهبود فعالیت فتوسنتزی، افزایش تثبیت بیولوژیک نیتروژن و کاهش اثرات منفی تنش غرقابی، موجب بهبود عملکرد سویا شد. در میان ارقام مورد بررسی، بیشترین برتری در رقم ساری از نظر حفظ عملکرد دانه و در ارقام کتول و امیر از نظر کارایی همزیستی و تثبیت نیتروژن مشاهده شد. واژه‌های کلیدی: باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم، تعداد گره، کلروفیل، عملکرد دانه.

مقدمه

سویا (*Glycine max* [L.] Merr.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی خانواده بقولات و پرکشت‌ترین محصولات لگومی جهان است که نقش مهمی در تأمین پروتئین و روغن گیاهی مورد نیاز انسان، خوراک دام و صنایع مختلف دارد (Qin et al., 2022; Pandit et al., 2026). اهمیت این گیاه علاوه بر ارزش غذایی و اقتصادی، به توانایی آن در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن از طریق همزیستی با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم نیز مربوط است. در این فرآیند، باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم با استقرار در گره‌های ریشه و استفاده از آنزیم نیتروژناز، نیتروژن مولکولی اتمسفر را به ترکیبات قابل استفاده برای گیاه تبدیل کرده و در مقابل، ترکیبات کربنی و انرژی مورد نیاز خود را از گیاه دریافت می‌کنند (Ladha et al., 2022; Garcia et al., 2020). اگر این همزیست‌ها به‌خوبی با ژنوتیپ‌های گیاه میزبان خود مطابقت داشته باشند، در شرایط رشد مطلوب، همزیستی سویا با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم می‌تواند سالانه بیش از ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار را تثبیت کند (Maluk et al., 2023)، که حدود ۷۷ درصد از کل نیتروژن تثبیت‌شده توسط گیاهان لگومی زراعی را شامل می‌شود (Pandit et al., 2026). این فرآیند ضمن کاهش وابستگی به کودهای نیتروژنی، نقش مهمی در بهبود تغذیه نیتروژنی، رشد و عملکرد گیاه و افزایش پایداری تولید دارد. کارایی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ژنوتیپ گیاه میزبان، سویه باکتری و شرایط محیطی قرار می‌گیرد. محققان نشان دادند که پاسخ ارقام مختلف سویا به تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم متفاوت است و میزان افزایش عملکرد دانه به نوع رقم و سویه باکتری وابسته است. از این رو، انتخاب رقم مناسب و استفاده از سویه‌های کارآمد باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم می‌تواند در افزایش بهره‌وری تولید سویا مؤثر باشد (Zimmer et al., 2016). با وجود اهمیت اقتصادی و زراعی سویا، توسعه کشت این محصول با

محدودیت‌های مختلفی از جمله تنش‌های محیطی مواجه است (Daneshian, 2020). در میان تنش‌های غیرزنده، غرقابی یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد سویا به شمار می‌رود (Wu et al., 2017). بارندگی شدید، آبیاری بیش از حد و زهکشی نامناسب با کاهش تبادل گازها و محدود کردن دسترسی ریشه به اکسیژن، فعالیت‌های متابولیکی گیاه را مختل می‌کنند (Kim et al., 2015). کاهش فعالیت ریشه، اختلال در جذب آب و عناصر غذایی، محدودیت تولید انرژی و تجمع ترکیبات سمی ناشی از تنفس بی‌هوازی، از پیامدهای اصلی این تنش هستند که در نهایت موجب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند (Xuewen et al., 2014; Herzog et al., 2016; Zhang et al., 2017). همچنین، غرقابی با اختلال در عملکرد گره‌های ریشه می‌تواند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن را کاهش دهد. در این شرایط، حفظ فعالیت گره‌های ریشه و تداوم تثبیت نیتروژن می‌تواند در افزایش تحمل سویا به تنش مؤثر باشد. در همین راستا، پژوهشگران گزارش کردند که همزیستی مؤثر سویا با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم از طریق بهبود وضعیت تغذیه نیتروژنی و حفظ فعالیت گره‌های ریشه می‌تواند بخشی از آثار منفی غرقابی را کاهش دهد (Pucciariello et al., 2019). همچنین محققان کاهش معنی‌دار صفات رشدی و عملکردی و عملکرد دانه سویا را تحت تنش غرقابی گزارش کردند (Krisnawati et al., 2021). واکنش سویا به غرقابی علاوه بر شرایط محیطی، به ویژگی‌های ژنتیکی ارقام نیز وابسته است. ارقام سویا بر اساس تیپ رشد به گروه‌های محدود، نامحدود و نیمه‌محدود تقسیم می‌شوند که از نظر الگوی رشد، طول دوره رشد و نحوه تخصیص مواد فتوسنتزی با یکدیگر تفاوت دارند (Khadempir, 2013). در میان ارقام متداول سویا در ایران، به‌ویژه مناطق شمالی کشور، ارقام ساری، سامان، کتول و امیر از اهمیت زراعی برخوردارند (Razmi, 2022) و تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها می‌تواند موجب واکنش متفاوت به تنش غرقابی و تلقیح باکتری شود.

با توجه به اهمیت تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، اثرات نامطلوب غرقابی بر رشد، عملکرد و فعالیت گره‌های ریشه و نیز تفاوت واکنش ارقام سویا به این تنش، شناسایی ارقام متحمل و بررسی راهکارهای مدیریتی مؤثر ضروری است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی واکنش ارقام مختلف سویا به تنش غرقابی و بررسی نقش تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم *ژاپونیکوم* در بهبود تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، رشد و عملکرد گیاه تحت شرایط غرقابی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایش گلدانی و در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار طی سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ در محوطه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار رقم سویا (ساری، سامان، امیر و کتول)، تنش غرقابی در دو سطح (عدم غرقابی و غرقابی به مدت ۱۵ روز) و تلقیح با باکتری برادی ریزوبیوم *ژاپونیکوم* (*Bradyrhizobium japonicum*) در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) بودند. گلدان‌های مورد استفاده از جنس پلاستیک با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۷

سانتی‌متر بوده و به منظور تأمین زهکشی مناسب، در کف آن‌ها منافذی برای خروج آب اضافی تعبیه شد. بذر ارقام مورد مطالعه از سازمان جهاد کشاورزی گرگان تهیه و در گلدان‌ها کشت شد. پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها در مرحله ۴-۶ برگ، عملیات تنک‌کردن انجام گرفت و تعداد ۳ بوته یکنواخت در هر گلدان حفظ شد. در مجموع ۴۸ گلدان شامل ۱۶ ترکیب تیماری و سه تکرار مورد استفاده قرار گرفت. خاک مورد استفاده دارای بافت لومی-رسی-شنی (بافت متوسط) با ترکیب ۵۰ درصد شن، ۳۰ درصد رس و ۲۰ درصد سیلت بود. پیش از اجرای آزمایش، نمونه خاک از نظر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی در آزمایشگاه خاک مورد تجزیه قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از آزمون خاک، مقادیر مورد نیاز کودهای مصرفی تعیین و در طول دوره رشد گیاه اعمال شد. همچنین عملیات مدیریتی شامل کنترل علف‌های هرز، آفات و بیماری‌ها در زمان مناسب و مطابق با توصیه‌های فنی انجام گرفت تا شرایط رشد مطلوب برای گیاهان فراهم شود. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول (۱) ارائه شده است

جدول ۱- مشخصات خاک مورد مطالعه.

Table 1- Characteristics of the studied soil.

Characteristic	pH	EC ds/m	Organic carbon percentage %	Total nitrogen	Saturation percentage %	Available P mg/kg	Available K mg/kg
Amount	7.8	0.53	1.4	0.093	56.8	9.9	93.6

در زمان کاشت به خاک تمام گلدان‌ها کود اوره به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار به عنوان آغازگر اضافه شد. بذرهای پیش از کاشت با باکتری برادی ریزوبیوم *ژاپونیکوم* تلقیح شدند. باکتری مورد نظر از مؤسسه تحقیقات آب و خاک استان گلستان تهیه شد. بذرهای مایه تلقیح که هر گرم آن حاوی 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود، استفاده گردید. همچنین برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرهای از محلول آب-شکر به نسبت ۱۰ درصد استفاده

شد. اعمال تنش غرقابی در مرحله آغاز گلدانی (R1) انجام گرفت. بدین منظور، حوضچه‌هایی به مساحت ۱۲ مترمربع و عمق ۵۰ سانتی‌متر احداث و کف و دیواره‌های آن با پلاستیک ضخیم عایق‌بندی شد. پس از رسیدن گیاهان به مرحله شروع گلدانی، از هر رقم شش گلدان تلقیح‌شده و شش گلدان بدون تلقیح انتخاب و به مدت ۱۵ روز در شرایط غرقابی داخل حوضچه‌ها قرار داده شدند. پس از پایان دوره غرقابی، گلدان‌ها از حوضچه

خارج و نمونه برداری لازم برای اندازه گیری صفات رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوئید)، نیتروژن برگ، تعداد گره در بوته و میانگین قطر گره انجام شد. سپس گیاهان تا پایان دوره رشد در شرایط مطلوب نگهداری شدند و در مرحله رسیدگی، اندازه گیری صفات عملکردی و اجزای عملکرد شامل تعداد غلاف در بوته، وزن غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه مورد نظر صورت گرفت.

به منظور اندازه گیری رنگیزه های فتوسنتزی، از روش آرنون (Arnon, 1949) استفاده شد. بدین منظور، ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگ های کاملاً توسعه یافته فوقانی برداشت و در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد کاملاً ساییده و همگن گردید. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۱۸ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. سپس فاز شفاف جدا و حجم آن با استون ۸۰ درصد به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. جذب نوری نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS مدل S2000 در طول موج های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه گیری شد. پیش از انجام قرائت ها، دستگاه با استفاده از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد (بلاک) تنظیم و صفر گردید. در نهایت، مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها با استفاده از روابط مربوطه محاسبه شدند.

$$Chla = 12.7 (A663) - 2.69 (A645) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$Chlb = 22.9 (A645) - 4.68 (A663) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$C = 7.6 (A480) - 1.49 (A510) \times \frac{V}{1000 \times W} \text{ (کاروتنوئید)}$$

در روابط فوق، V بیانگر حجم نهایی عصاره استخراج شده (میلی لیتر)، W وزن تر نمونه برگ (گرم) و Chla، Chlb و C به ترتیب نشان دهنده غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی هستند.

برای اندازه گیری نیتروژن برگ، از دستگاه کج‌دال (آلمان Behr-D-40599) بر اساس روش شومان و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. نمونه برداری برگ در مرحله آغاز گلدهی (R1) و قبل و بعد از اعمال تنش غرقابی انجام شد. بدین منظور، یک گرم از نمونه های خشک و آسیاب شده در دمای ۴۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ تا ۴ ساعت خاکستری شد، سپس با ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال هضم گردید. محلول حاصل پس از صاف شدن، در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد (Ali Ehyaei, 2007; Ghazan, 2006). در نهایت، مقدار نیتروژن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS مدل S2000 در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه گیری شد.

در پایان دوره رشد و در زمان رسیدگی کامل گیاه، به منظور ارزیابی عملکرد و اجزای عملکرد، صفاتی شامل تعداد غلاف در بوته، وزن غلاف، تعداد دانه در هر غلاف و عملکرد دانه در بوته اندازه گیری شدند. پس از برداشت، نمونه ها خشک شده و وزن خشک اندام های مورد نظر با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین گردید. عملکرد دانه نیز پس از جداسازی و توزین دانه های هر بوته محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها نیز به وسیله آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

رنگیزه های فتوسنتزی

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهم کنش رقم، تلقیح باکتری و تنش غرقابی بر محتوای کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین ها نشان داد که در شرایط بدون تنش غرقابی، تلقیح باکتری موجب افزایش محتوای کلروفیل a در تمامی ارقام شد؛ به طوری که این افزایش در ارقام

وزن تر) مشاهده شد (شکل ۱). این نتایج بیانگر آن است که حفظ کلروفیل تحت تنش غرقابی به ویژگی‌های ژنتیکی ارقام و کارایی تلقیح باکتری وابسته است. اثر مثبت تلقیح باکتری احتمالاً ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش دسترسی به نیتروژن، به‌عنوان یکی از اجزای اصلی ساختار کلروفیل، بوده است. این یافته‌ها با نتایج سیدشریفی (۲۰۱۳) مبنی بر نقش باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در بهبود تغذیه نیتروژنی و صفات فیزیولوژیک سویا همخوانی دارد.

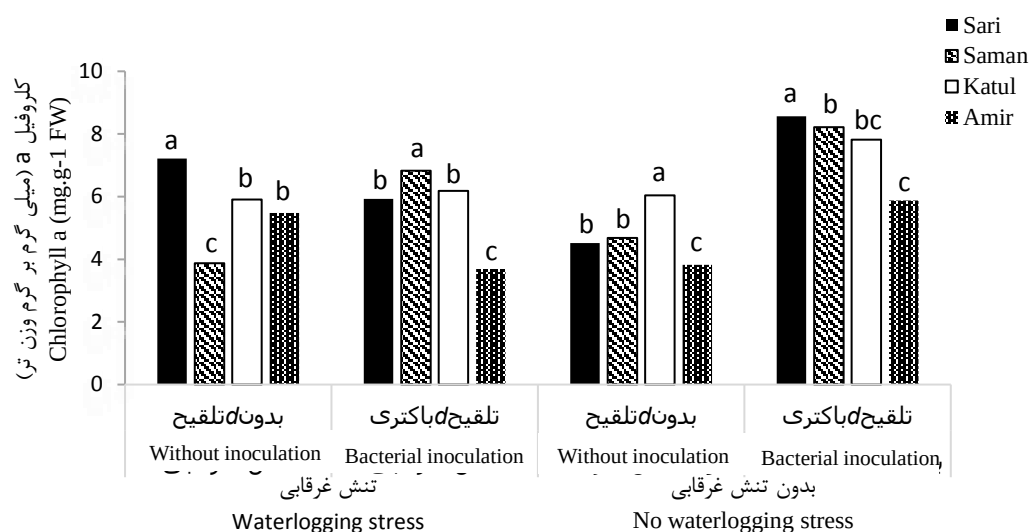
ساری، سامان، کتول و امیر به‌ترتیب ۸۹، ۷۶، ۲۹ و ۵۴ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح بود (شکل ۱). در شرایط غرقابی، پاسخ ارقام به تلقیح متفاوت بود؛ به‌گونه‌ای که محتوای کلروفیل a در ارقام سامان و کتول به‌ترتیب ۷۶ و ۵ درصد افزایش یافت، در حالی که در ارقام ساری و امیر به‌ترتیب ۱۸ و ۳۳ درصد کاهش مشاهده شد. بیشترین مقدار کلروفیل a در شرایط بدون تنش و همراه با تلقیح باکتری در رقم ساری (۸/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد، در حالی که کمترین مقدار آن در شرایط غرقابی همراه با تلقیح در رقم امیر (۳/۶۹ میلی‌گرم بر گرم

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تنش غرقابی و تلقیح باکتری بر صفات رنگی‌ده‌های فتوسنتزی، نیتروژن برگ و تعداد گره.
Table 2- Analysis of variance of the effect of waterlogging stress and bacterial inoculation on photosynthetic pigments, leaf nitrogen and nodule number.

S.O.V	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid	Leaf nitrogen	nodule number
		-----mg.g ⁻¹ FW-----			mg.g	
Cultivar (C)	3	8.7**	0.7**	0.8**	18.1**	1367.8**
Waterlogging stress (W)	1	3.7*	0.4**	3.3**	48.1**	494.1**
Bacterial inoculation (B)	1	25.1**	1.6**	2.7**	0.2ns	36.8**
C*W	3	0.8ns	0.012ns	0.1ns	5**	234.8**
C*B	3	5.2**	0.4**	0.3*	6.7**	49.7**
W*B	1	23.8**	1.4**	3.9**	0.1ns	972**
W*C*B	3	3.5**	0.2**	0.3*	2.1ns	265.2**
Error	32	0.6	0.04	0.1	0.8	5.95
C.V	-	13.1	11.4	17.2	18.9	20.3

ns, *, and ** به ترتیب غیر معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

ns, *, and ** are non-significant and significant at the 5 and 1 percent probability levels, respectively.



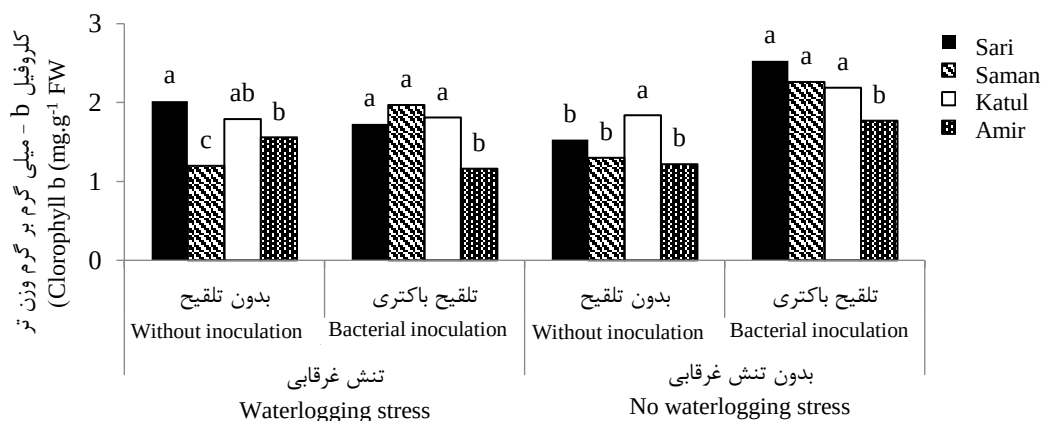
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر میزان کلروفیل a در سویا.

Figure 1- Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on the amount of chlorophyll a in soybeans.

داد. بیشترین مقدار کلروفیل b در شرایط بدون تنش و همراه با تلقیح باکتری در رقم ساری (۲/۵۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن در شرایط غرقابی همراه با تلقیح در رقم امیر (۱/۱۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (شکل ۲). به طور کلی، نتایج نشان داد که تنش غرقابی موجب کاهش کلروفیل b می شود، اما تلقیح باکتری با بهبود وضعیت تغذیه ای گیاه و افزایش دسترسی به نیتروژن، به حفظ رنگیزه های فتوسنتزی و تداوم فعالیت فتوسنتزی کمک می کند. در این میان، رقم ساری به دلیل برخورداری از مقادیر بالاتر کلروفیل و پاسخ مناسب به تلقیح باکتری، عملکرد مطلوب تری در شرایط تنش غرقابی نشان داد.

کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهم کنش رقم، تلقیح باکتری و تنش غرقابی بر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین ها نشان داد که در شرایط بدون تنش غرقابی، تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم موجب افزایش محتوای کلروفیل b در تمامی ارقام شد؛ به طوری که این افزایش در ارقام ساری، سامان، کتول و امیر به ترتیب ۶۵، ۷۴، ۱۹ و ۴۵ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح بود (شکل ۲). در شرایط غرقابی، پاسخ ارقام به تلقیح متفاوت بود؛ به گونه ای که محتوای کلروفیل b در ارقام سامان و کتول به ترتیب ۶۴ و ۱ درصد افزایش یافت، در حالی که در ارقام ساری و امیر به ترتیب ۱۴ و ۲۶ درصد کاهش نشان



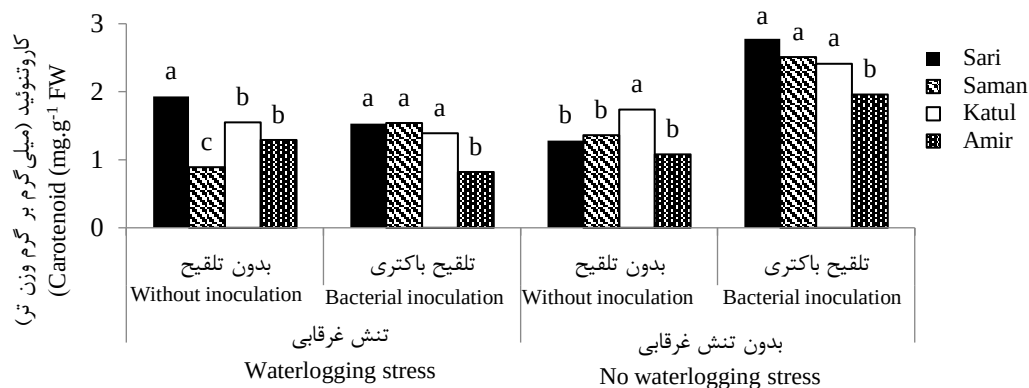
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر میزان کلروفیل b در سویا.

Figure 2. Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on the amount of chlorophyll b in soybeans.

همچنین تنش غرقابی به تنهایی موجب افزایش کاروتنوئید در ارقام ساری و امیر (به ترتیب ۵۱ و ۱۹ درصد)، اما کاهش آن در ارقام سامان و کتول شد. این نتایج نشان می‌دهد که واکنش سیستم آنتی‌اکسیدانی ارقام مختلف سویا در برابر تنش غرقابی متفاوت بوده و کارایی تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در حفظ رنگیزه‌های محافظ نیز به ویژگی‌های ژنتیکی هر رقم وابسته است. افزایش کاروتنوئید در اثر تلقیح باکتری بیانگر نقش این باکتری در تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و حفظ دستگاه فتوسنتزی گیاه تحت شرایط تنش است؛ موضوعی که با نتایج پیردهقان و همکاران (۲۰۱۹) نیز همخوانی دارد.

کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس برهمکنش رقم، تلقیح باکتری و تنش غرقابی بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که پاسخ کاروتنوئید به تنش غرقابی و تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم وابسته به رقم بود. در شرایط بدون تنش، تلقیح باکتری موجب افزایش محتوای کاروتنوئید در تمامی ارقام شد که بیشترین افزایش در رقم ساری (۲/۷۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده گردید. در مقابل، در شرایط غرقابی، تنها رقم سامان به تلقیح پاسخ مثبت نشان داد و محتوای کاروتنوئید آن به طور قابل توجهی افزایش یافت (۷۳ درصد)، در حالی که در ارقام ساری، کتول و امیر تلقیح اثر افزایشی نداشت.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر میزان کاروتنوئید در سویا.

Figure 3. Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on carotenoid content in soybeans.

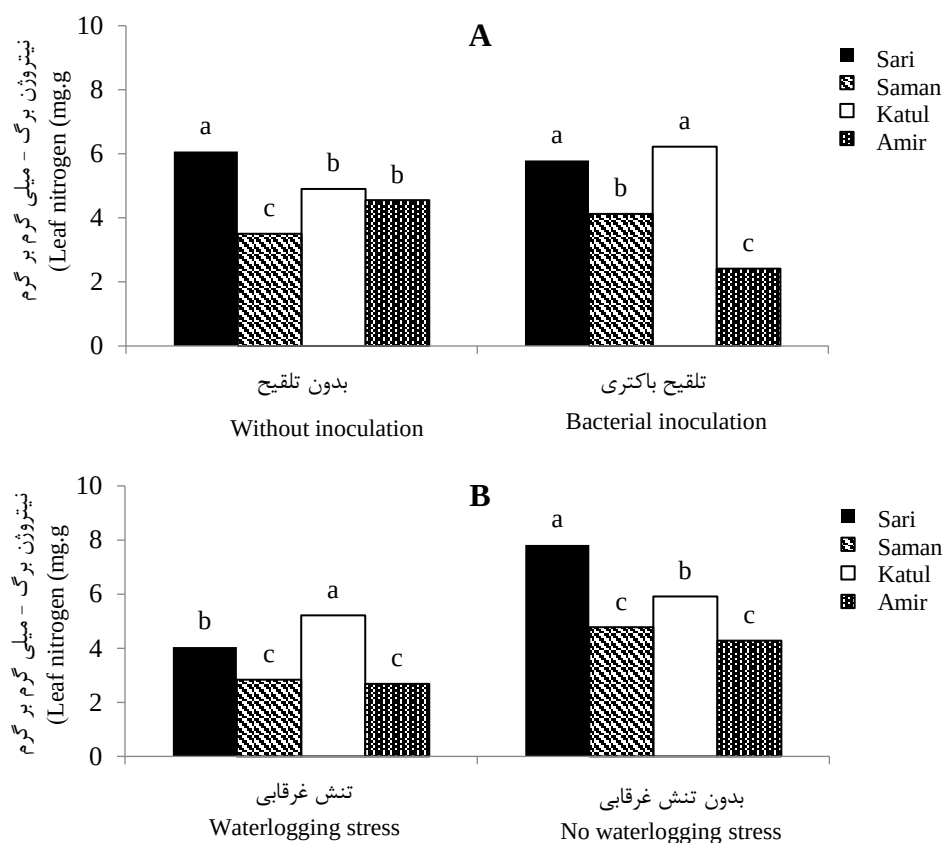
نیتروژن برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش رقم $\times$ تلقیح باکتری و رقم $\times$ تنش غرقابی بر میزان نیتروژن برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که پاسخ نیتروژن برگ به تلقیح باکتری به ارقام سویا وابسته بود. تلقیح باکتری موجب افزایش نیتروژن برگ در ارقام کتول و سامان (به ترتیب ۲۷ و ۱۷ درصد) شد که این افزایش در رقم کتول بارزتر بود، در حالی که در ارقام ساری و امیر کاهش نیتروژن برگ مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار نیتروژن برگ در رقم کتول تحت تلقیح باکتری به دست آمد (۶/۲۲ میلی‌گرم بر گرم) که بیانگر کارایی بیشتر این رقم در برقراری همزیستی مؤثر با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم و بهره‌گیری از تثبیت بیولوژیکی نیتروژن است (شکل ۴- a).

تنش غرقابی موجب کاهش نیتروژن برگ در تمامی ارقام سویا شد، اما شدت این کاهش به رقم وابسته بود (شکل ۴- b). رقم کتول با کمترین کاهش (حدود ۱۱ درصد) و بالاترین مقدار نیتروژن برگ در شرایط غرقابی (۵/۲۱ میلی‌گرم بر گرم)، توانایی بیشتری در حفظ وضعیت تغذیه نیتروژنی خود نشان داد، در حالی که رقم ساری بیشترین کاهش (حدود ۴۸ درصد) را تجربه کرد. این نتایج بیانگر تفاوت ژنتیکی ارقام در تحمل تنش غرقابی و حفظ جذب یا تثبیت نیتروژن تحت شرایط کمبود اکسیژن است.

به‌طور کلی تنش غرقابی موجب کاهش نیتروژن برگ در تمامی ارقام شد که می‌توان علت آن را به محدود شدن

فعالیت ریشه، کاهش جذب عناصر غذایی و اختلال در فرآیند تثبیت بیولوژیک نیتروژن در شرایط کمبود اکسیژن نسبت داد. غرقاب با کاهش تهویه خاک، فعالیت باکتری‌های همزیست و تشکیل گره‌های فعال را محدود کرده و در نتیجه توانایی گیاه در تأمین نیتروژن کاهش می‌یابد. در مقابل، تلقیح باکتری در برخی ارقام، به‌ویژه کتول و سامان، توانست با افزایش کارایی همزیستی و تثبیت نیتروژن، بخشی از اثرات منفی تنش را جبران کند. این تفاوت پاسخ ارقام نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی در توانایی برقراری همزیستی مؤثر با باکتری و حفظ جذب نیتروژن در شرایط تنش است. در مجموع، نتایج نشان داد انتخاب رقم مناسب نقش مهمی در حفظ وضعیت تغذیه نیتروژنی گیاه تحت شرایط غرقابی دارد. رقم کتول توانست نیتروژن برگ را تحت تنش غرقابی بهتر از سایر ارقام حفظ کند و بالاترین مقدار نیتروژن برگ را در شرایط تنش داشت (۵/۲۱ میلی‌گرم بر گرم)، در حالی که رقم ساری در شرایط بدون تنش از بالاترین میزان نیتروژن برخوردار بود. نتایج این پژوهش با گزارش پیرولی بیرانوند و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی دارد که نقش مؤثر سویه‌های باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم را در تأمین نیتروژن مورد نیاز سویا تأیید کرده و نشان دادند حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد نیتروژن مورد نیاز گیاه می‌تواند از طریق همزیستی با این باکتری تأمین شود.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری (A) و رقم × تنش غرقابی (B) بر نیتروژن برگ در سویا.
Figure 4. Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation (A) and cultivar × waterlogging stress (B) on leaf nitrogen in soybean.

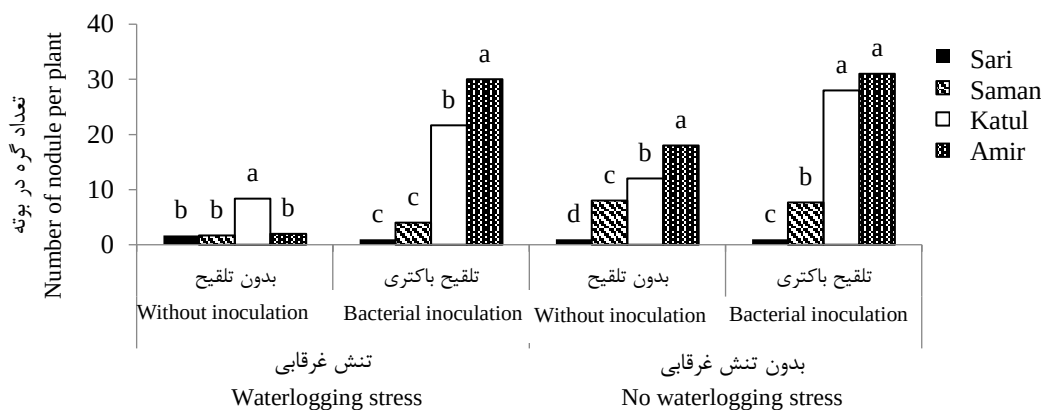
مؤثر با باکتری تحت شرایط تنش است. بر این اساس، ارقام کتول و امیر پاسخ مطلوب‌تری به تلقیح باکتری در شرایط تنش نشان دادند. اگرچه در رقم امیر طی تنش غرقابی تعداد گره‌ها کاهش یافت، اما تلقیح باکتری توانست تعداد گره‌ها را تقریباً به سطح شرایط بدون تنش برگرداند. کاهش تعداد گره تحت شرایط غرقابی را می‌توان به محدودیت اکسیژن در ناحیه ریشه، اختلال در تنفس هوازی و کاهش تأمین انرژی مورد نیاز برای تشکیل و فعالیت گره‌ها نسبت داد. غرقاب با کاهش رشد ریشه و محدود کردن تبادلات گازی، فرآیند همزیستی بین گیاه و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن را مختل کرده و در نتیجه موجب کاهش گره‌زایی می‌شود. از سوی دیگر، تلقیح باکتری از طریق افزایش جمعیت مؤثر باکتری در ناحیه ریشه و بهبود استقرار همزیستی، توانست بخشی از این خسارت را جبران کند. نتایج این پژوهش با یافته‌های

تعداد گره در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش رقم × تلقیح باکتری × غرقاب بر تعداد گره در بوته سویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که پاسخ تعداد گره به تلقیح باکتری و تنش غرقابی به ارقام سویا وابسته بود. در شرایط بدون تنش، تلقیح باکتری بیشترین افزایش تعداد گره را در ارقام کتول و امیر ایجاد کرد (به ترتیب ۲۸ و ۳۱ گره در بوته)، در حالی که در ارقام ساری و سامان تأثیر محسوسی نداشت. تنش غرقابی موجب کاهش شدید تعداد گره در اغلب ارقام شد، اما شدت این کاهش در رقم کتول کمتر از سایر ارقام بود. همچنین تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم *ژاپونیکوم* در شرایط غرقابی توانست کاهش تعداد گره را به‌ویژه در ارقام کتول و امیر به‌طور چشمگیری جبران کند که بیانگر کارایی بالاتر این دو رقم در برقراری همزیستی

گره‌زایی، تثبیت نیتروژن، فتوسنتز و رشد گیاه، از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد سویا محسوب می‌شود (Mutava et al., 2015; Chen et al., 2016; Tewari and Arora, 2016).

محققان مطابقت دارد که کاهش تعداد گره، وزن خشک گره، تثبیت نیتروژن و عملکرد دانه سویا را تحت تنش غرقابی گزارش کردند (Khan et al., 2022). همچنین دیگر پژوهشگران بیان کردند که غرقاب با کاهش



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر تعداد گره در بوته در سویا.

Figure 5- Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on the number of nodules per plant in soybean

فعالیت همزیستی در این ارقام باشد. کاهش قطر گره در شرایط غرقابی را می‌توان به محدودیت اکسیژن در ناحیه ریشه، اختلال در تنفس سلولی و کاهش فعالیت گره‌های تثبیت‌کننده نیتروژن نسبت داد. علاوه بر این، افزایش تولید اتیلن و تسریع فرایند پیری سلولی در شرایط کمبود اکسیژن، موجب کاهش رشد و توسعه گره‌ها می‌شود (Qi et al., 2019). در مقابل، تلقیح باکتری از طریق بهبود تثبیت نیتروژن، افزایش دسترسی گیاه به این عنصر و همچنین تولید تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر اکسین و سیتوکینین، موجب تحریک تقسیم و توسعه سلولی شده و در نتیجه به حفظ یا افزایش قطر گره کمک می‌کند (Wybouw and De Rybel, 2019). بنابراین، تلقیح باکتری می‌تواند به عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش آثار منفی تنش غرقابی بر فعالیت همزیستی و رشد گره‌های ریشه در سویا مورد توجه قرار گیرد.

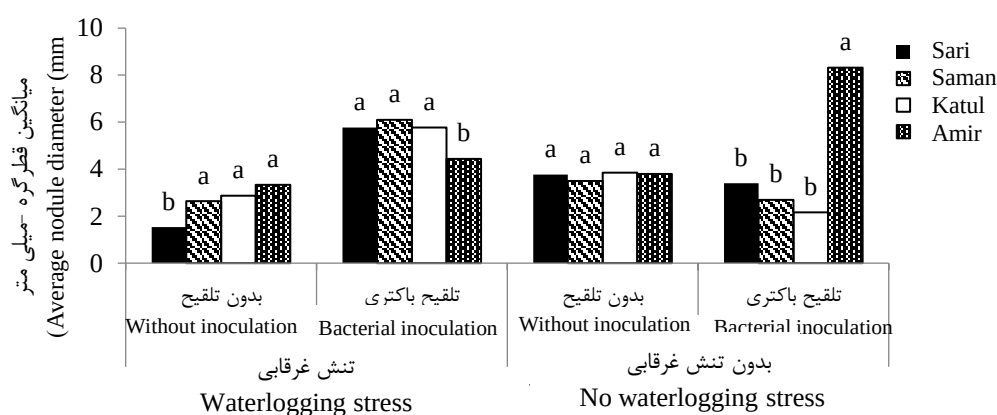
میانگین قطر گره

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش رقم و تلقیح باکتری و تنش غرقابی بر قطر گره سویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که پاسخ قطر گره به تلقیح باکتری و تنش غرقابی وابسته به رقم بود. در شرایط بدون تنش، تلقیح باکتری تنها در رقم امیر افزایش چشمگیری در قطر گره نشان داد، در حالی که در سایر ارقام تغییر محسوسی مشاهده نشد. تنش غرقابی قطر گره را در همه ارقام کاهش داد، اما تلقیح باکتری توانست این کاهش را به‌ویژه در ارقام ساری، سامان و کتول به‌طور قابل‌توجهی جبران کند. این نتایج نشان می‌دهد که اگرچه رقم امیر بیشترین ظرفیت تشکیل گره را داشت، اما ارقام کتول و ساری در حفظ یا افزایش اندازه گره تحت شرایط غرقابی عملکرد مطلوب‌تری داشتند که می‌تواند بیانگر پایداری بیشتر

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر تنش غرقابی و تلقیح باکتری بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام سویا.

Table 2- Analysis of variance of the effect of waterlogging stress and bacterial inoculation on growth traits and yield of soybean cultivars.

S.O.V	df	Average nodule diameter	Pod number per plant	Pod weight	Grain number per pod	Grain yield
		mm		gr		gr.plant
Cultivar (C)	3	10.4**	262.1**	3.6**	848.7**	2.03**
Waterlogging stress (W)	1	1.1ns	4.1ns	0.7ns	0.3ns	0.86*
Bacterial inoculation (B)	1	18.7**	47.9**	9.5**	65.4ns	3.34**
C*W	3	13.7**	17.3*	5.6**	14.8ns	3.69**
C*B	3	1.8ns	16.7*	2.9**	42.9ns	2.04**
W*B	1	33.8**	33.2*	4.3**	56.3ns	2.71**
W*C*B	3	6.3**	1.3ns	0.8*	36.1ns	0.47ns
Error	32	1.4	5.4	0.3	16.4	0.17
C.V	-	27	9.7	6.4	9.1	8.1



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر میانگین قطر گره سویا.

Figure 6- Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on the average soybean nodule diameter.

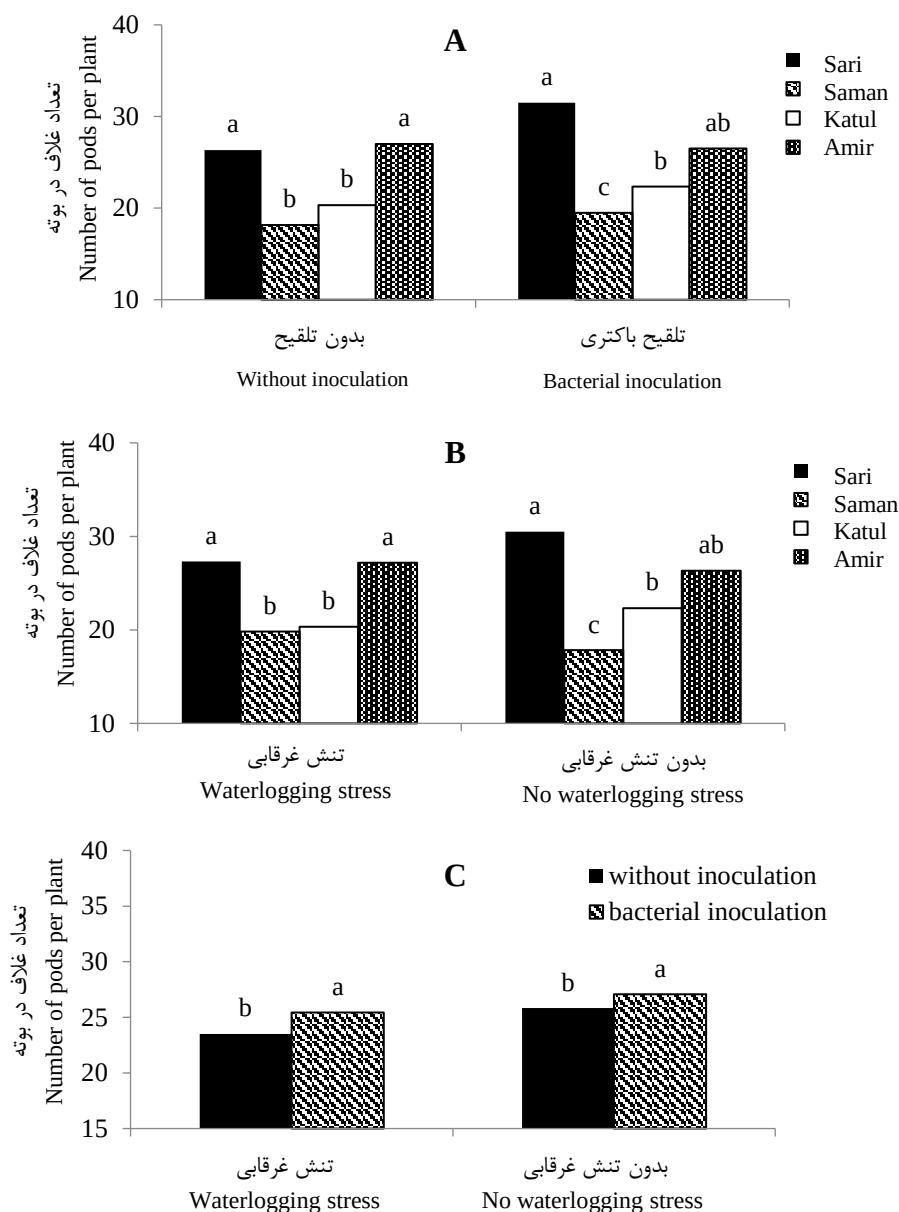
وضعیت تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی به تشکیل اندام‌های زایشی است (شکل ۷- a). نتایج نشان داد تنش غرقابی اثر متفاوتی بر تعداد غلاف در ارقام سویا داشت. این تنش موجب کاهش تعداد غلاف در ارقام ساری و کتول شد، در حالی که در ارقام سامان و امیر تغییر محسوسی مشاهده نشد (شکل ۷- b). با وجود اثر غرقابی، ارقام ساری و امیر همچنان بیشترین تعداد غلاف را در بین ارقام مورد بررسی حفظ کردند که بیانگر پایداری بیشتر این دو رقم از نظر تشکیل اندام‌های زایشی تحت شرایط تنش است (شکل ۷- b). همچنین بررسی‌ها نشان داد اثر تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم/ژاپونیکوم بر تعداد غلاف به شرایط محیطی وابسته بود. در شرایط بدون تنش غرقابی،

تعداد غلاف در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات برهمکنش رقم × تلقیح باکتری، رقم × غرقاب و غرقاب × تلقیح باکتری بر تعداد غلاف در بوته سویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). به‌طوری که اثر متفاوتی بر تعداد غلاف ارقام سویا داشت. به‌طوری که موجب افزایش تعداد غلاف در ارقام ساری، کتول و سامان شد و بیشترین پاسخ در رقم ساری (۱۹ درصد) مشاهده گردید، در حالی که در رقم امیر تعداد غلاف کاهش یافت (شکل ۷- a). همچنین بیشترین تعداد غلاف در شرایط تلقیح به رقم ساری اختصاص داشت که نشان‌دهنده سازگاری بیشتر این رقم در تبدیل بهبود

اثربخشی این باکتری‌ها را محدود سازد (Chieb and Gachomo; 2023). بنابراین، انتخاب ارقام متحمل در کنار بهره‌گیری از میکروارگانیسم‌های مفید می‌تواند راهکاری مؤثر برای حفظ عملکرد سویا در شرایط مستعد غرقابی باشد.

تلقیح باکتری موجب افزایش تعداد غلاف در بوته شد، در حالی که در شرایط غرقابی، تلقیح باکتری توانست کاهش ناشی از تنش را جبران کند و اثر معنی‌داری بر این صفت داشت (شکل ۷- c). این نتایج نشان می‌دهد که کارایی باکتری در بهبود تشکیل غلاف، تحت شرایط مطلوب رشد بیشتر از شرایط غرقابی است (شکل ۷- c). کاهش تعداد غلاف تحت تنش غرقابی را می‌توان به اختلال در فعالیت ریشه، محدودیت جذب عناصر غذایی، کاهش فتوسنتز و اختلال در انتقال مواد فتوسنتزی به اندام‌های زایشی نسبت داد. این شرایط سبب کاهش تشکیل و بقای گل‌ها و در نهایت کاهش تعداد غلاف در بوته می‌شود. از سوی دیگر، بهبود تعداد غلاف در اثر تلقیح باکتری احتمالاً ناشی از افزایش دسترسی گیاه به نیتروژن، بهبود وضعیت تغذیه‌ای و تحریک رشد رویشی و زایشی است. با این حال، کاهش کارایی تلقیح در شرایط غرقابی نشان داد که کمبود اکسیژن در ناحیه ریشه توانست فعالیت باکتری‌های همزیست و فرآیند تثبیت نیتروژن را محدود کند و در نتیجه اثرات مثبت تلقیح را کاهش دهد. در میان ارقام مورد بررسی، رقم ساری با حفظ تعداد غلاف بیشتر در هر دو شرایط غرقابی و بدون غرقاب، عملکرد مطلوب‌تری نشان داد که بیانگر توانایی بالاتر این رقم در حفظ رشد زایشی تحت شرایط تنش است. نتایج این پژوهش با گزارش محققان مطابقت دارد که بیان کردند باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق بهبود جذب عناصر غذایی، تنظیم هورمون‌های رشد و افزایش کارایی فرآیندهای فیزیولوژیک می‌توانند رشد و اجزای عملکرد را بهبود بخشند. با این وجود، شدت تنش غرقابی می‌تواند



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری (الف)، رقم × تنش غرقابی (ب) و تنش غرقابی × تلقیح باکتری (ج) بر تعداد غلاف در بوته سویا.

Figure 7. Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation (A), cultivar × waterlogging stress (B), and waterlogging stress × bacterial inoculation (C) on the number of pods per soybean plant.

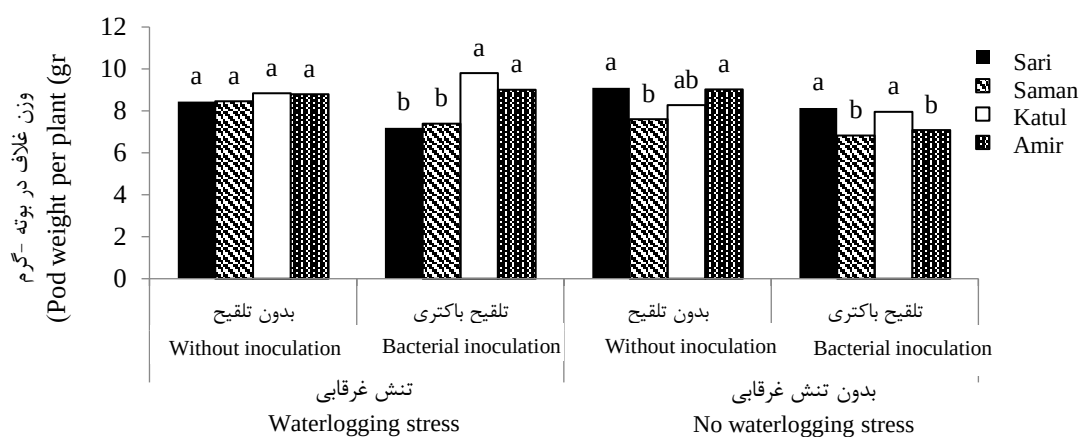
وزن غلاف در تمامی ارقام شد؛ به‌طوری‌که این کاهش در ارقام ساری، سامان، کتول و امیر به‌ترتیب ۱۰/۵۴، ۱۰/۱۳، ۳/۸۶ و ۲۱/۵۰ درصد بود، در حالی که تحت تنش غرقابی، این پاسخ بین ارقام متفاوت بود؛ به‌طوری‌که تلقیح در ارقام کتول و امیر موجب افزایش وزن غلاف شد، اما در ارقام ساری و سامان کاهش این صفت را به همراه

وزن غلاف در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × غرقاب بر وزن غلاف در بوته سویا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). پاسخ وزن غلاف به تلقیح باکتری به رقم و شرایط غرقابی وابسته بود. در شرایط بدون تنش، تلقیح موجب کاهش

وضعیت تغذیه نیتروژنی، حفظ فعالیت فتوسنتزی و افزایش انتقال مواد پرورده به غلاف‌ها باشد. وزن غلاف به‌عنوان یکی از اجزای مهم عملکرد، ارتباط مستقیمی با ظرفیت تشکیل و پر شدن دانه دارد و هرگونه کاهش در این صفت می‌تواند در نهایت به افت عملکرد دانه منجر شود. حساسیت بالای مرحله گلدهی و تشکیل غلاف به تنش‌های محیطی، به‌ویژه غرقابی، موجب اختلال در گرده‌افشانی، افزایش سقط گل و کاهش تشکیل دانه می‌شود (Liu et al., 2020; Rasouli et al., 2014). نتایج این پژوهش با گزارش محقق دیگری همخوانی دارد که کاهش معنی‌دار وزن غلاف در رقم DPX (کتول) را در اثر تنش غرقابی گزارش کرد (Turani, 2013).

داشت. این نتایج نشان می‌دهد که کارایی باکتری در حفظ یا بهبود وزن غلاف تحت تنش غرقابی به ویژگی‌های ژنتیکی ارقام بستگی دارد. کاهش وزن غلاف تحت تنش غرقابی را می‌توان به اختلال در فرآیندهای فتوسنتزی، محدودیت انتقال مواد فتوسنتزی به اندام‌های زایشی و کاهش توان منبع و مخزن نسبت داد. تنش غرقابی با ایجاد شرایط کمبود اکسیژن در ناحیه ریشه، جذب آب و عناصر غذایی را محدود کرده و در نتیجه رشد و توسعه اندام‌های زایشی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از سوی دیگر، پاسخ متفاوت ارقام به تلقیح باکتری در شرایط غرقابی نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی در کارایی همزیستی با باکتری و توانایی حفظ رشد زایشی تحت شرایط تنش است. افزایش وزن غلاف در برخی ارقام می‌تواند ناشی از بهبود



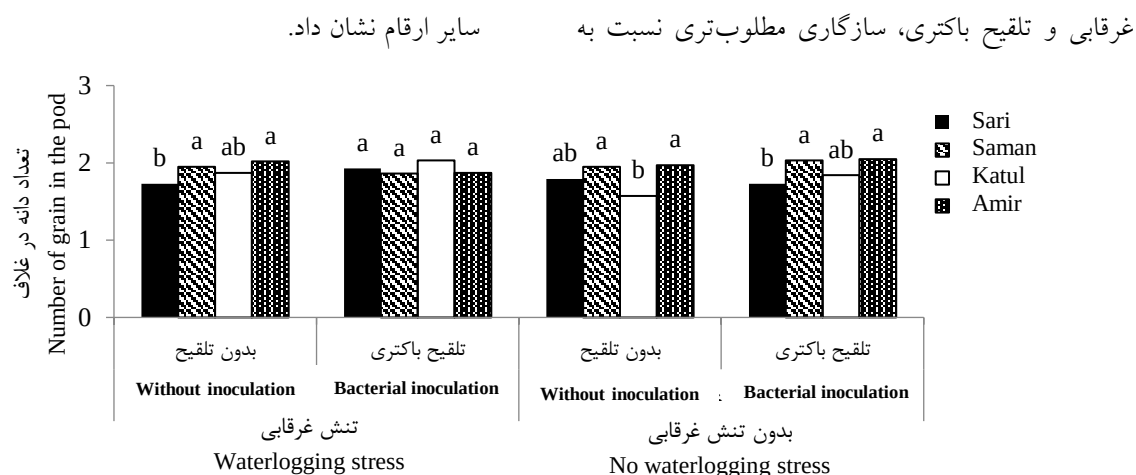
شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر وزن غلاف در بوته سویا.

Figure 8. Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on pod weight in soybean plants.

ارقام، به‌ویژه کتول، تعداد دانه در غلاف حفظ یا حتی افزایش یافت. در شرایط غرقابی، تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم بیشترین تأثیر مثبت را در رقم کتول نشان داد و موجب ثبت بالاترین تعداد دانه در غلاف شد (شکل ۹). تفاوت پاسخ ارقام به تلقیح باکتری و تنش غرقابی بیانگر نقش ویژگی‌های ژنتیکی در حفظ اجزای عملکرد است. افزایش تعداد دانه در غلاف در برخی ارقام احتمالاً ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای و حفظ فعالیت فیزیولوژیکی گیاه در شرایط تنش بوده است. در مجموع، رقم کتول با حفظ تعداد دانه در غلاف تحت شرایط

تعداد دانه در غلاف

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر برهمکنش رقم × تلقیح باکتری × غرقاب بر تعداد دانه در غلاف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). پاسخ تعداد دانه در غلاف به تلقیح باکتری و تنش غرقابی به رقم وابسته بود. در شرایط بدون تنش، تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم موجب افزایش تعداد دانه در ارقام سامان، کتول و امیر شد، در حالی که در رقم ساری تغییر محسوسی مشاهده نشد (شکل ۹). همچنین تنش غرقابی اثر یکنواختی بر این صفت نداشت و در برخی



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری × تنش غرقابی بر تعداد دانه در غلاف سویا.

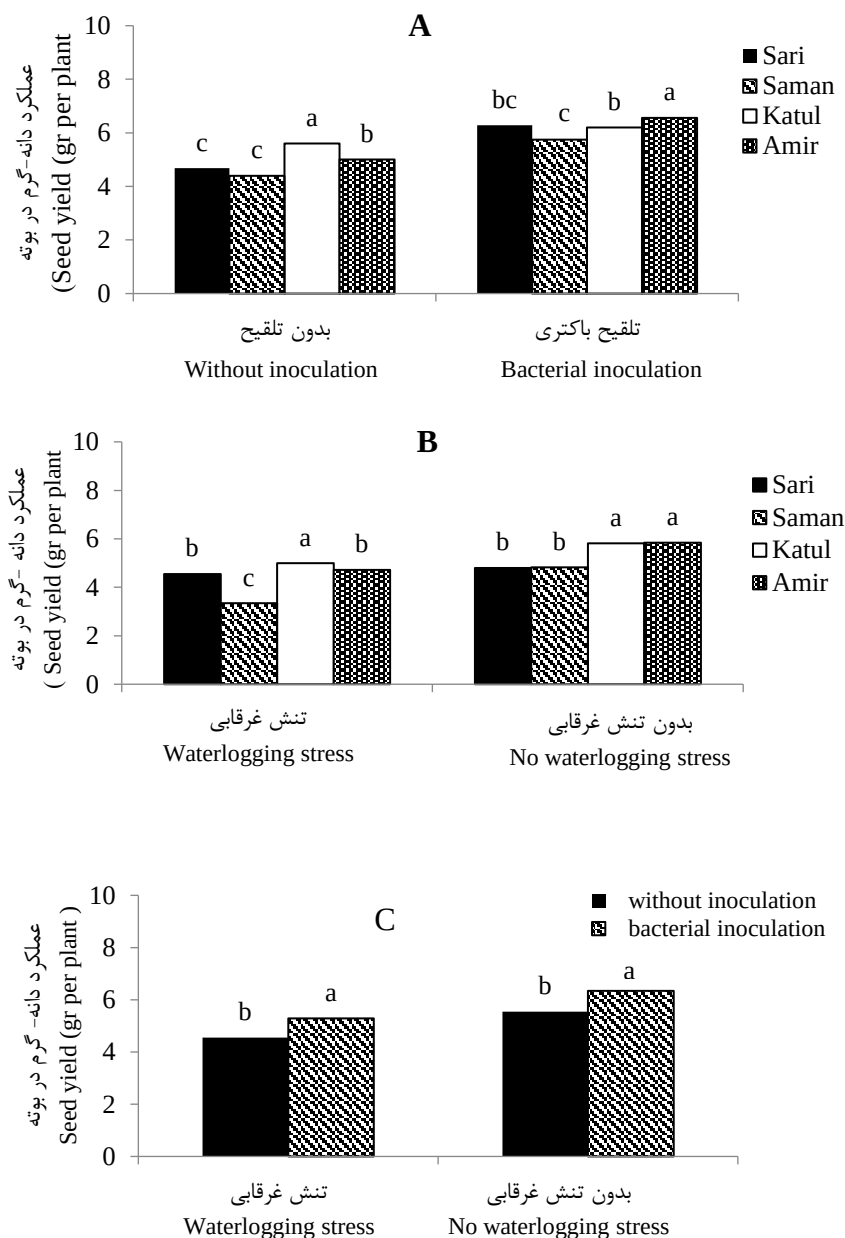
Figure 9. Comparison of the average interaction effect of cultivar × bacterial inoculation × waterlogging stress on the number of seeds in soybean pods.

دانه را تحت تنش حفظ کرد، در حالی که رقم سامان بیشترین افت عملکرد را نشان داد (شکل ۱۰- b). این نتایج می‌تواند بیانگر تفاوت ژنتیکی ارقام در میزان تحمل به تنش غرقابی و توانایی حفظ عملکرد دانه تحت شرایط کمبود اکسیژن در ناحیه ریشه باشد (شکل ۱۰- b).

اثر تلقیح باکتری بر عملکرد دانه به شرایط غرقابی وابسته بود. در شرایط بدون تنش، تلقیح تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه داشت و موجب کاهش عملکرد دانه شد (شکل ۱۰- c). در شرایط غرقابی، تلقیح باکتری توانست بخشی از کاهش عملکرد ناشی از تنش را جبران کرده و عملکرد دانه را نسبت به تیمار غرقابی بدون تلقیح افزایش دهد (شکل ۱۰- c). این نتایج بیانگر نقش مؤثر باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در کاهش آثار زیان‌بار تنش غرقابی و حفظ عملکرد دانه سویا است (شکل ۱۰- c). این نتایج نشان می‌دهد که کارایی تلقیح باکتری در شرایط تنش بیشتر بوده و احتمالاً از طریق بهبود تغذیه نیتروژنی و حفظ فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه، به کاهش اثرات منفی غرقابی کمک کرده است. همچنین، تفاوت پاسخ ارقام بیانگر نقش مهم ویژگی‌های ژنتیکی در تحمل به غرقابی و بهره‌مندی از همزیستی با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن است.

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات برهمکنش رقم × تلقیح باکتری، رقم × غرقاب و غرقاب × تلقیح باکتری بر عملکرد دانه در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). اثر تلقیح باکتری بر عملکرد دانه به رقم وابسته بود. تلقیح باکتری موجب افزایش عملکرد دانه در تمام ارقام موردبررسی شد و بیشترین عملکرد در رقم امیر مشاهده گردید (شکل ۱۰- a). بیشترین پاسخ به تلقیح در رقم ساری ثبت شد، به‌طوری‌که عملکرد دانه آن حدود ۳۴ درصد نسبت به عدم تلقیح افزایش یافت (شکل ۱۰- a). همچنین، در شرایط عدم تلقیح، رقم کتول بیشترین عملکرد دانه را داشت، اما پس از تلقیح، رقم امیر با ثبت ۶/۵۶ گرم در بوته، بالاترین عملکرد را در بین ارقام مورد بررسی به خود اختصاص داد (شکل ۱۰- a). همچنین نتایج نشان داد تنش غرقابی موجب کاهش عملکرد دانه در تمامی ارقام مورد بررسی شد، اما شدت این کاهش بین ارقام متفاوت بود (شکل ۱۰- b). در شرایط بدون تنش، ارقام امیر و کتول بیشترین عملکرد دانه را داشتند، در حالی که با اعمال تنش غرقابی، عملکرد تمامی ارقام کاهش یافت (شکل ۱۰- b). با این وجود، رقم کتول بالاترین عملکرد



شکل ۱۰- اثر متقابل رقم × تلقیح باکتری، رقم × تنش غرقابی و تنش غرقابی × تلقیح باکتری بر عملکرد دانه در بوته سویا.
Figure 10. Interaction effect of cultivar × bacterial inoculation, cultivar × waterlogging stress, and waterlogging stress × bacterial inoculation on grain yield in soybean plants.

نتیجه گیری کلی

را حدود ۳۴ درصد نسبت به عدم تلقیح افزایش داد و بیشترین عملکرد دانه (۶/۵۶ گرم در بوته) در رقم امیر حاصل شد. همچنین در شرایط غرقابی، تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم عملکرد دانه را از ۴/۵۵ به ۵/۲۹ گرم در بوته (حدود ۱۶ درصد) افزایش داد که نشان‌دهنده نقش این باکتری در کاهش خسارت ناشی از تنش است.

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش غرقابی با کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، اختلال در تثبیت بیولوژیک نیتروژن و افت عملکرد دانه، رشد و عملکرد سویا را تحت تأثیر قرار داد. با این حال، شدت این اثرات در ارقام مختلف متفاوت بود. تلقیح بذر با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در شرایط بدون تنش، عملکرد دانه رقم ساری

مناسب‌تری به تلقیح باکتری داشتند. بنابراین، استفاده از تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم *ژاپونیکوم*، همراه با انتخاب رقم مناسب، می‌تواند راهکاری مؤثر برای کاهش اثرات منفی تنش غرقابی، بهبود تثبیت بیولوژیک نیتروژن و افزایش پایداری تولید سویا در مناطق مستعد غرقابی باشد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی در خصوص انتشار این مقاله وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری صمیمانه پرسنل آزمایشگاه به جهت فراهم آوردن امکانات انجام این پژوهش کمال تشکر را دارند.

از نظر صفات فیزیولوژیک، تلقیح باکتری موجب افزایش کلروفیل a و b در تمامی ارقام بدون تنش شد؛ به‌طوری‌که بیشترین افزایش کلروفیل a و b به‌ترتیب در ارقام ساری (۸۹ درصد) و سامان (۷۴ درصد) مشاهده شد. همچنین تلقیح باکتری در شرایط غرقابی سبب بهبود محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، به‌ویژه در ارقام سامان و کتول، شد که بیانگر نقش آن در حفظ ظرفیت فتوسنتزی گیاه تحت تنش است. علاوه بر این، تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم *ژاپونیکوم* موجب افزایش تعداد گره‌های ریشه در ارقام کتول و امیر شد؛ به‌گونه‌ای که تعداد گره در رقم امیر از ۱۸ به ۳۱ و در رقم کتول از ۱۲ به ۲۸ گره در بوته افزایش یافت و در شرایط غرقابی نیز این برتری حفظ شد.

در مجموع، رقم ساری با حفظ بهتر رنگیزه‌های فتوسنتزی، پاسخ مطلوب به تلقیح باکتری و دستیابی به بیشترین عملکرد دانه، تحمل بیشتری به تنش غرقابی نشان داد. از سوی دیگر، ارقام کتول و امیر از نظر صفات مرتبط با تثبیت بیولوژیک نیتروژن و گره‌زایی، پاسخ

References

1. Ali-Ehyaiei, M. 2007. Description of Chemical Soil Analysis Methods (Volume 2). Publication No. 1024, *Soil and Water Research Institute*, Agricultural Research and Education Institute, Tehran, Iran. (in persian)
2. Ardakani, M. and Nadur, A. 2009. Principles and Techniques for Plant Scientists. Tehran University Press. 270p. (in persian)
3. Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology*. 24 (1): 1-15.
<https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
4. Chen, W., Yao, Q., Patil, G.B., Agarwal, G., Deshmukh, R.K., Lin, L., Wang, B., Wang, Y., Prince, S.J., Song, L., Xu, D., An, Y.C., Valliyodan, B., Varshney, R.K. and Nguyen, H.T. 2016. Identification and comparative analysis of differential gene expression in soybean leaf tissue under drought and flooding stress revealed by RNA-Seq. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1044. doi: 10.3389/fpls.2016.01044
5. Chieb, M. and Gachomo, E.W. 2023. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC plant biology*, 23(1), 407. Doi: 10.1186/s12870-023-04403-8
6. Daneshian, j. 2020. Collection of publications on world experiences in the agricultural and natural resources sector; Comparison of soybean development in Iran with other countries (No. 4). Agricultural Education Publication. 60 pages. (in persian)
7. Garcia, N., da-Silva, C.J., Cocco, K.L.T., Pomagualli, D., de Oliveira, F.K., da Silva, J.V.L., de Oliveira, A.C.B. and do Amarante, L. 2020. Waterlogging tolerance of five soybean genotypes through different physiological and biochemical mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 172: 103975. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.103975
8. Ghazan Shahi, J. 1997. Soil and Plant Analysis; *Aizh Publications*: Tehran, Iran. p 272. (In Persian)
9. Herzog, M., Striker, G.G., Colmer, T.D. and Pedersen, O. 2016. Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat—a review of root and shoot physiology. *Plant, cell & environment*, 39(5), 1068-1086.
<https://doi.org/10.1111/pce.12676>
10. Khadempir, M. 2013. Effect of flooding period on reproductive stage on some anatomical physiological characteristics and soybean yield. Master's Degree in Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 125 p. (In persian)(Dissertation)
11. Khan, M.N., Ahmed, I., Ud Din, I., Noureldeen, A., Darwish, H. and Khan, M. 2022. Proteomic insight into soybean response to flooding stress reveals changes in energy metabolism and cell wall modifications. *Plos one*, 17(5), e0264453.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264453>
12. Kim, Y.H., Hwang, S.J., Waqas, M., Khan, A.L., Lee, J.H., Lee, J.D., Nguyen, H.T. and Lee, I.J. 2015. Comparative analysis of endogenous hormones level in two soybean (*Glycine max* L.) lines differing in waterlogging tolerance. *Front. Plant Sci*. 6:714. doi: 10.3389/fpls.2015.00714
13. Krisnawati, A., Nuryati, & Adie, M.M. 2021. Agronomic tolerance changes of soybean genotypes under waterlogged condition. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 648, No. 1, p. 012046). IOP Publishing.
DOI: 10.1088/1755-1315/648/1/012046
14. Ladha, J.K., Peoples, M.B., Reddy, P.M., Biswas, J.C., Bennett, A., Jat, M.L., Krupnik, T.J. 2022. Biological nitrogen fixation and prospects for ecological intensification in cereal-based cropping systems. *Field Crops Res*. 283, 108541.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108541>
15. Liu, K., Harrison, M.T., Ibrahim, A., Manik, S.N., Johnson, P., Tian, X., Meinke, H. and Zhou, M. 2020. Genetic factors increasing barley grain yields under soil waterlogging. *Food Energy Secur.* 9, e238.
<https://doi.org/10.1002/fes3.238>
16. Maluk, M., Giles, M., Wardell, G.E., Akramin, A.T., Ferrando-Molina, F., Murdoch, A., Barros, M., Beukes, C., Vasconcelos, M., Harrison, E., Daniell, T.J., Quilliam, R.S., Iannetta, P.P.M. and James, E.K. 2023. Biological nitrogen fixation by soybean (*Glycine max* [L.] Merr.), a novel, high protein crop in Scotland, requires inoculation with non-native bradyrhizobia. *Front.*

- Agron. 5:1196873. doi: 10.3389/fagro.2023.1196873
17. Mutava, R.N., Prince, S.J.K., Syed, N.H., Song, L., Valliyodan, B., Chen, W. and Nguyen, H.T. 2015. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 109-120. Doi: 10.1016/j.plaphy.2014.11.010.
18. Pandit, M., Panthi, S. and Chiluwal, A. 2026. Biological Nitrogen Fixation in Soybean: Mechanisms, Benefits, Sustainability, and Future Prospects. *Agronomy*, 16(10), 946. <https://doi.org/10.3390/agronomy16100946>
19. Pirdehghan, S., Rahemi-Karizaki, A., Gholamali Pouralemdari, A., Sabouri, H. 2019. Germination and growth of wheat seedlings in response to waterlogging stress. *Journal of applied research of plant ecophysiology*. 7 (14):1-24. (in persian).
20. Pirvali Beiranvand, N., Afrideh, H., Saeed, N.A. and Saleh Rastin, N. 2003. Study of the ability of some strains of *Rhizobium japonicum* to provide nitrogen to soybean cultivars. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 34(1), 97-104. (in persian).
21. Pucciariello, C., Boscari, A., Tagliani, A., Brouquisse, R. and Perata, P. 2019. Exploring legume-rhizobia symbiotic models for waterlogging tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 578. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00578>
22. Qi, X., Li, Q., Ma, X., Qian, C., Wang, H., Ren, N., Shen, Ch., Huang, SH., Xu, W., Xu, Q. and Chen, X. 2019. Waterlogging-induced adventitious root formation in cucumber is regulated by ethylene and auxin through reactive oxygen species signalling. *Plant, Cell & Environment*, 42(5), 1458-1470. <https://doi.org/10.1111/pce.13504>
23. Qin, P., Wang, T. and Luo, Y. 2022. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *Journal of Agriculture and Food Research*, 7, 100265. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>
24. Rasouli, F., Galashi, S., Pirdashti, H. and Zeinali, E. 2014. Investigation of waterlogging stress effect on yield and yield components of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Crop Production*, 7(2), 23-42. <https://doi.org/20.1001.1.2008739.1393.7.2.2.7> (in persian)
25. Razmi, N. 2022. Soybean Production. Agricultural Education and Extension, *Agricultural Education Publication*. 72 pages. (in persian)
26. Seyed Sharifi, R. 2013. The effect of seed inoculation with rhizobium and nitrogen fertilizer application on soybean yield and agronomic characteristics under Ardabil conditions. *Iranian Agricultural Research*. 11(4): 618-628. (in persian)
27. Schuman, G.E., Stanley, M.A. and Knudsen, D. 1973. Automated total nitrogen analysis of soil and plant samples. *Soil Science Society of America Journal*, 37(3): 480-481. <https://doi.org/10.2136/sssaj1973.03615995003700030045x>.
28. Tewari, S. and Arora, N.K. 2016. Soybean production under flooding stress and its mitigation using plant growth-promoting microbes. In *Environmental stresses in soybean production* (pp. 23-40). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801535-3.00002-4>
29. Turani, M. 2013. Studying the effect of flooding period in the vegetative growth stage on some physiological and anatomical characteristics and yield of soybean. Master's thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 117 pp. (in persian)
30. Wu, C., Zeng, A., Chen, P., Florez-Palacios, L., Hummer, W., Mokua, J., Klepadlo, M., Yan, L., MA, Q. and Cheng, Y. 2017. An effective field screening method for flood tolerance in soybean. *Plant Breeding*, 136(5), 710-719. <https://doi.org/10.1111/pbr.12487>
31. Wybouw, B. and De Rybel, B. 2019. Cytokinin—a developing story. *Trends in plant science*, 24(2), 177-185. [https://doi.org/S1360-1385\(18\)30245-0](https://doi.org/S1360-1385(18)30245-0)
32. Xuwen, X., Huihui, W., Xiaohua, Q., Qiang, X. and Xuehao, C. 2014. Waterlogging-induced increase in fermentation and related gene expression in the root of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Scientia Horticulturae*, 179, 388-395.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.001>

33. Zhang, P., Lyu, D., Jia, L., He, J. and Qin, S. 2017. Physiological and de novo transcriptome analysis of the fermentation mechanism of *Cerasus sachalinensis* roots in response to short-term waterlogging. BMC genomics, 18, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4055-1>
34. Zimmer, S., Messmer, M., Haase, Th., Piepho, H.P., Mindermann, A., Schulz, H., Habekub, A., Ordon, F., Wilbois, K.P. and Heb, J. 2016. Effects of soybean variety and *Bradyrhizobium* strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in Germany. Europ. J. Agron., 72: 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.008>