

تأثیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش دهنده رشد بر عملکرد، اجزای عملکرد و پر شدن دانه سویا (*Glycine max L.*)

رئوف سید شریفی^{۱*} - سرور خرم دل^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۲۹

چکیده

به منظور بررسی تأثیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش دهنده رشد بر عملکرد، اجزای عملکرد و دوره پر شدن دانه سویا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل محلول پاشی با نانو اکسید روی در چهار سطح (صفر، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ گرم بر لیتر) و پنج سطح تلقیح (عدم تلقیح بذر به عنوان شاهد، تلقیح بذر با برادی رایزوبیوم جاپونیکوم، تلقیح توأم بذر با برادی رایزوبیوم و آروسپریلیوم لیوفروم استرین OF، تلقیح توأم بذر با برادی رایزوبیوم و سودوموناس پوتیدا استرین ۹، تلقیح بذر با رایزوبیوم + سودوموناس + آروسپریلیوم) بودند. نتایج نشان داد که با افزایش مصرف نانو اکسید روی، وزن خشک گره، تعداد دانه در نیام و تعداد نیام در بوته افزایش یافت. بالاترین وزن خشک گره (۹/۰۵ میلی‌گرم)، تعداد نیام در بوته (۲۳/۲۳) و دانه در نیام (۳/۰۸) در محلول پاشی ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی به دست آمد. بالاترین ارتفاع بوته (۷۹/۶۵ سانتی‌متر)، تعداد گره در بوته (۱۶/۵۵)، عملکرد دانه (۱۸۷۵ کیلوگرم در هکتار)، طول دوره پر شدن دانه (۶۶/۷۶ روز)، دوره مؤثر پر شدن دانه (۵۴/۶۵ روز) و سرعت پر شدن دانه (۰/۰۴۷۶ گرم در روز) در محلول پاشی با نانو اکسید روی به میزان ۰/۹ گرم در لیتر و تلقیح توأم بذر با باکتری‌های محرک رشد و رایزوبیومی به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های PGPR، تلقیح بذر، سویا، نانو اکسید روی

مقدمه

از جمله وجود مقادیر زیاد کربنات کلسیم، pH قلیایی و عدم مصرف کودهای حاوی عناصر ریز مغذی و کودهای آلی موجب کاهش ذخیره این عنصر در خاک و در نتیجه کاهش عملکرد شده است (۲۴). یکی از راه‌های تأمین روی مورد نیاز گیاهان محلول پاشی است. از ویژگی‌های این روش می‌توان به برطرف کردن سریع کمبود، جلوگیری از تثبیت عنصر در خاک، آسان‌تر بودن اجرای آن، کاهش سمیت ناشی از تجمع این عناصر در خاک، کاهش مصرف کودهای شیمیایی و خطرات زیست محیطی ناشی از آن‌ها اشاره کرد (۲۱) و در این راستا عرضه کودهای شیمیایی به شکل نانو ذرات در مقایسه با شکل متداول و مرسوم آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. در نانو کودها عناصر غذایی به تدریج و به صورت کنترل شده در خاک آزاد می‌شوند و در حقیقت با استفاده از نانو کودها فرصت جدیدی به منظور افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی و به حداقل رساندن هزینه‌های حفاظت از محیط زیست پیش روی انسان گشوده شده است (۳۱).

گزارش‌های محدودی مبنی بر تأثیر مثبت مواد غذایی نانو بر رشد برخی از گیاهان از جمله بادام زمینی (*Arachis hypogaea L.*) (۳۴)، نخود (*Cicer arietinum L.*) (۳۶) و اسفناج (*leracea*)

سویا (*Glycine max L.*) یکی از منابع مهم تأمین پروتئین و روغن به دلیل سازگاری وسیع با شرایط اقلیمی، قابلیت هضم بالایی روغن، مرغوبیت کنجاله، تثبیت بیولوژیک نیتروژن و افزایش حاصلخیزی خاک از اهمیت خاصی در بین دانه‌های روغنی برخوردار است (۴۵).

روی یکی از عناصر مهم ریز مغذی است که در سنتز تریپتوفان، پروتئین و ایندول استیک اسید، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و بخشی از ساختمان آنزیم‌ها مشارکت دارد (۲۶). کمبود این عنصر در مناطق خشک و نیمه خشک، خاک‌های شنی، فرسایش یافته و به خصوص در خاک‌های آهکی (۵۷)، خاک‌های سدیمی و غرقابی بدون تهویه (۵۰) شیوع بیشتری دارد. کشت مداوم، مصرف همه ساله و بیش از نیاز کودهای فسفره، آبشویی و سایر شرایط حاکم بر خاک‌های آهکی

۱- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

*- نویسنده مسئول: (Email: Raouf_ssharifi@Yahoo.com)

۲- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

و عملکرد دانه در تیمارهای تلقیح شده سویا بیشتر بود. وزن نهایی دانه به‌عنوان یکی از اجزاء تعیین‌کننده‌ی عملکرد دانه به دو عامل سرعت و طول دوره‌ی پر شدن دانه از مواد پرورده که نتیجه آن افزایش وزن خشک دانه است بستگی دارد (۹). در واقع رسیدگی فیزیولوژیکی دانه مرحله‌ای است که دانه به بالاترین وزن خود می‌رسد و مشارکت دو عامل سرعت و مدت پر شدن دانه در این وزن نهایی تعیین‌کننده می‌باشد (۴). دوره پر شدن دانه یک جزء تعیین‌کننده‌ی زمان رسیدگی و مرحله اصلی تشکیل عملکرد است. طولانی بودن این دوره امکان انتقال مواد فتوسنتزی بیشتر از مبدأ به مقصد و در نتیجه افزایش عملکرد دانه را فراهم می‌سازد. راعی و همکاران (۳۷) در بررسی اثر تلقیح برادی ریزوبیوم بر طول دوره پر شدن دانه سویا، حداکثر وزن خشک دانه و دوام پر شدن دانه را در حالت تلقیح بذر با ریزوبیوم گزارش نمودند. سیوی رود و همکاران (۴۹) نشان دادند که محلول‌پاشی در طول دوره پر شدن دانه، موجب افزایش طول دوره مؤثر پر شدن دانه، عملکرد و درصد پروتئین دانه سویا شد. سوقوط (۴۷) در بررسی تأثیر تلقیح بذر با ریزوبیوم بر ارقام مختلف سویا گزارش کرد که تلقیح در افزایش ماده خشک دانه و عملکرد سویا در مقایسه با کاربرد ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار مؤثرتر بود.

به دلیل اهمیت زراعت سویا به‌عنوان یکی از مهمترین دانه‌های روغنی در منطقه و نقش ریز مغذی روی و باکتری‌های محرک رشد در بهبود عملکرد، کمی بررسی‌هایی انجام شده درخصوص بر هم‌کنش توأم باکتری‌های محرک رشد و ریز مغذی روی بر گره‌زایی و سرعت پر شدن دانه موجب شد تا تأثیر تلقیح بذر با باکتری‌های ریزوبیومی و محرک رشدی بر عملکرد، سرعت و طول دوره پر شدن دانه سویا مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۲ در مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل با مختصات جغرافیایی ۴۸° و ۲۰ طول شرقی و ۳۸° و ۱۵ عرض شمالی با ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل چهار سطح نانو اکسید روی (صفر، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ گرم بر لیتر) و پنج سطح تلقیح (عدم تلقیح بذر با باکتری به‌عنوان شاهد، تلقیح بذر با برادی ریزوبیوم جاپانیکوم، تلقیح بذر با برادی ریزوبیوم جاپانیکوم + آزوسپریلیوم لیپوفروم استرین OF، تلقیح بذر با برادی ریزوبیوم جاپانیکوم + سودوموناس پوتیدا استرین ۹، تلقیح بذر با ریزوبیوم جاپانیکوم + سودوموناس پوتیدا + آزوسپریلیوم لیپوفروم) بودند. نانو اکسید روی تولید کشور چین بود که از شرکت نوترینو تهیه شد و مشخصات آن در جدول ۱ و خصوصیات فیزیکی

(*Spinacia L.*) (۵۹) وجود دارد. در آزمایش پیوندی و همکاران (۳۵) مصرف یک کیلوگرم در هکتار کلات آهن به شکل نانو در مقایسه با شکل معمول آن، به نسبت بیشتری وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) را افزایش داد. در آزمایش پراساد و همکاران (۳۶) محلول‌پاشی نانو اکسید روی به مقدار ۲ گرم در ۱۵ لیتر آب موجب افزایش ارتفاع، تعداد نیام در بوته، وزن هزار دانه و غلظت روی در برگ و دانه بادام زمینی در مقایسه با محلول‌پاشی این کود به فرم معمول و با غلظت ۳۰ گرم در ۱۵ لیتر شد. پانندی و همکاران (۳۴) اظهار داشتند که مصرف نانو اکسید روی از طریق افزایش سطح ایندول استیک اسید در ریشه نخود، موجب افزایش رشد این گیاه گردید. مظاهری نیا و همکاران (۲۷) در مقایسه کارایی نانو اکسید آهن و آهن معمولی گزارش کردند که نانو اکسید آهن در مقایسه با آهن معمولی، از تأثیر معنی‌داری در افزایش آهن گیاه برخوردار بود. با توجه به قطر نانو ذرات، انتظار می‌رود سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو بسیار بیشتر از ذرات معمول باشد و بالا بودن کارایی جذب و سطح مخصوص نانو ذرات در مقایسه با ذرات معمول، می‌تواند اثرگذاری بیشتر این ذرات را توجیه نماید (۲۹). صالحی و طهماسبی (۴۳) برتری ذرات نانو را به حلالیت بیشتر، سبک و کوچک بودن و شناس بر خورد بیشتر این ذرات با گیاه نسبت دادند.

تثبیت بیولوژیک نیتروژن به‌وسیله لگوم‌ها، به‌عنوان یک صفت مهم تلقی می‌شود (۲۳) و وارکو (۵۵) معتقد است که ۲۵ تا ۷۵ درصد نیتروژن مورد نیاز سویا از طریق تثبیت تأمین می‌شود ولی برای افزایش کارایی تثبیت بیولوژیک، تلقیح بذر با استفاده از میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه لازم است (۵۸). این باکتری‌ها به‌طور طبیعی در خاک وجود دارند ولی تعداد و تراکم آن‌ها در خاک پایین است، بنابراین تلقیح بذر گیاهان با این باکتری‌ها می‌تواند جمعیت آن‌ها را به حد مطلوب رسانده و منجر به بروز اثر مفید آن‌ها در خاک گردند (۱۲). رادرش و همکاران (۴۲) اظهار داشتند که افزایش میزان رشد و عملکرد تحت تأثیر تلقیح با باکتری ریزوبیوم می‌تواند منجر به افزایش بازده استفاده از نیتروژن به دلیل تأمین آن در طی دوره رشد گیاه باشد. شریواستاوا و همکاران (۴۶) افزایش ۸/۶ درصدی عملکرد سویا را به واسطه تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم گزارش کردند. تاگوی و همکاران (۵۲)؛ احمد و همکاران (۲) بیشترین تعداد نیام در بوته، دانه در نیام، وزن هزار دانه و عملکرد دانه را در تیمارهای تلقیح شده و کمترین میزان این صفات را در حالت عدم تلقیح گزارش کردند. استانچوا و همکاران (۴۸)؛ اوتچو و همکاران (۳۲) نشان دادند که تیمارهای تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم از بالاترین تعداد و وزن خشک گره، وزن خشک اندام هوایی و نیتروژن تثبیتی نسبت به عدم تلقیح برخوردار بودند. دشتی و همکاران (۱۵) بیان کردند که به دلیل اثر مثبت حضور باکتری ریزوبیوم بر تعداد و وزن گره‌های فعال، میزان تثبیت نیتروژن

شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در جدول ۲ آورده شده است. میانگین دما و میزان بارندگی در طول دوره رشدی سویا در شکل ۱ ارائه شده است.

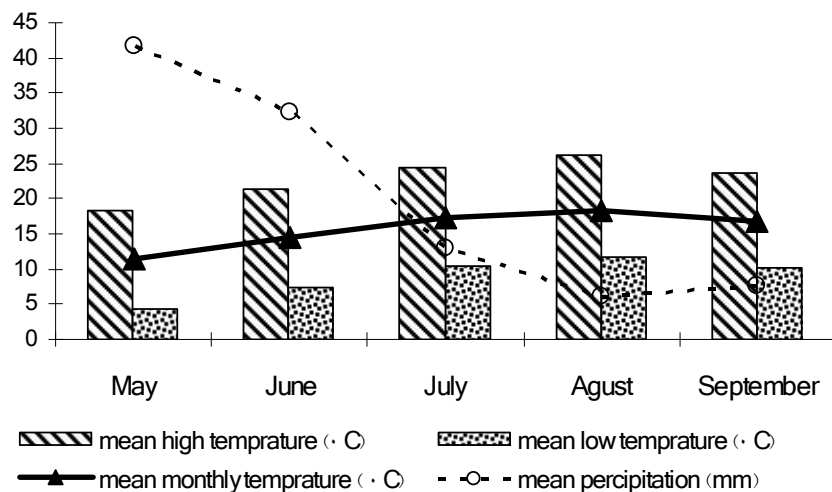
جدول ۱- مشخصات نانو اکسید روی مورد استفاده

Table 1- Nano-Zinc oxide properties used	
Weight	100 g
Purity	99 %
APS ¹	< 30 nm
SSA ²	> 30 m ² g ⁻¹
Appearance	Red powder
1- Average Particle Size	2- Specific Surface Area

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 2- Soil physico-chemical properties at depth of 0-45 cm

بافت خاک (%)			پتاسیم قابل جذب	فسفر قابل جذب	نیتروژن کل	کربن آلی	pH	هدایت الکتریکی (EC)	عمق نمونه برداری
رس	سیلت	شن	K	P	N total	O.C		EC × 10 ³	Depth of sampling (cm)
Sand	Silt	Clay	Absorbable (ppm)	Absorbable (ppm)	%	%			
43	52	5	326.5	38.3	0.12	1.08	8.34	1.59	0-45



شکل ۱- دمای حداقل، حداکثر و میزان بارندگی در طول دوره رشدی سویا در فصل زراعی ۱۳۹۲
Figure 1- Minimum and maximum temperatures and rainfall recorded during the growth period of soybean in 2013 cropping season

محللول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. کلیه عملیات در محیط سایه و دور از نور آفتاب انجام شد. باکتری‌ها از موسسه تحقیقات آب و خاک تهیه شد. تراکم کاشت معادل تراکم توصیه شده برای سویا در منطقه (۳۵ بوته در متر مربع) در نظر گرفته شد. رقم مورد استفاده سویا رقم تلار بود. این رقم در مناطق گرم کشور به دلیل شرایط مناسب جوی و برخورداری از طول دوره رشد مناسب در تیر ماه به صورت کشت دوم تابستانه کشت می‌گردد ولی در مناطق سردسیری همچون دشت اردبیل به صورت

عملیات تهیه زمین شامل شخم، دیسک و تسطیح بود. در مرحله بعدی تهیه جوی پشته‌ها توسط فاروئر انجام شد. کاشت در زمینی که به مدت دو سال در آیش بود انجام گردید و در سال‌های قبل نیز در زمین مذکور سویا کشت نشده بود. هر واحد آزمایشی شامل پنج ردیف چهار متری با فاصله بین ردیفی ۶۰ سانتی‌متر بود. کاشت بذر در عمق سه الی چهار سانتی‌متری و به صورت هیرم‌کاری و با دست انجام شد. برای تلقیح بذر میزان هفت گرم مایه تلقیح که هر گرم آن حاوی ۱۰^۷ عدد باکتری زنده و فعال در هر گرم بود، استفاده گردید. همچنین از

و GFR سرعت پر شدن دانه یا شیب خط برازش شده است. در این بررسی اجزای عملکرد و برخی صفات مرتبط با آن نظیر ارتفاع بوته، تعداد نیام در بوته و تعداد دانه در نیام و غیره از ۱۲ بوته انتخابی که به تصادف و از خطوط اصلی هر کرت برداشت شده بود اندازه‌گیری شد و میانگین داده‌های حاصل به‌عنوان ارزش آن صفت در تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌کار گرفته شد. عملکرد دانه از خطوط اصلی هر کرت و از بین بوته‌های رقابت‌کننده از سطحی معادل ۰/۵ متر مربع به‌دست آمد. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم افزارهای SAS و Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و ریزوبیومی بر عملکرد و برخی از ویژگی‌های زراعی سویا در جدول ۳ آورده شده است. براساس این جدول اثر محلول‌پاشی با نانو اکسید روی، تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و ریزوبیومی بر تمامی صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد و اثر ترکیب تیماری این دو عامل بر ارتفاع بوته، تعداد گره، عملکرد دانه و وزن صد دانه در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار گردید.

ارتفاع بوته: مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری محلول‌پاشی با نانو اکسید روی در تلقیح بذر با باکتری‌های ریزوبیومی و محرک رشدی نشان داد که حداکثر ارتفاع بوته (۷۹/۶۵ سانتی‌متر) در محلول‌پاشی ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی در حالت تلقیح توأم بذر با ریزوبیوم و سودوموناس و حداقل آن (۵۲/۱۱ سانتی‌متر) در عدم تلقیح و عدم مصرف نانو اکسید روی به‌دست آمد. البته بین ترکیب تیماری محلول‌پاشی ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی در تلقیح بذر با ریزوبیوم، تلقیح توأم با ریزوبیوم و آزوسپریلیوم، تلقیح بذر با ریزوبیوم + سودوموناس + آزوسپریلیوم با ترکیب تیماری محلول‌پاشی ۰/۶ گرم در لیتر نانو اکسید روی در حالت تلقیح توأم بذر با ریزوبیوم و سودوموناس اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۵). تاکرو والکر (۵۰) اظهار داشتند عناصر غذایی کم مصرف برای سویا به‌عنوان عامل محدودکننده عملکرد مطرح می‌باشند و در این راستا عنصر روی اگرچه یک ریز مغذی است ولی به دلیل اهمیتی که در گیاه دارد، می‌تواند تأثیر مهمی در افزایش عملکرد و ارتفاع بوته سویا داشته باشد (۳۸). رز و همکاران (۴۱) گزارش کردند که دو بار محلول‌پاشی سولفات روی به مقدار چهار کیلوگرم در هکتار، ضمن افزایش عملکرد دانه سویا، منجر به افزایش ارتفاع گیاه و غلظت روی در دانه گردید. تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی نیز منجر به افزایش ارتفاع بوته گردید. دلیپ کومار و همکاران (۱۶) افزایش ارتفاع بوته را به‌واسطه تلقیح بذر نخود با سودوموناس فلورسنس گزارش

کشت اصلی و در فصل بهار به محض مساعد شدن شرایط اقلیمی کشت می‌گردد. مقدار ۳۰-۲۵ کیلوگرم کود نیتروژنه استارتر از منبع اوره در اوایل دوره رشد در تمامی واحدهای آزمایشی به‌طور یکنواخت مصرف گردید. محلول‌پاشی نانو اکسید روی در دو مرحله از دوره رشد رویشی (مرحله ۴-۶ برگی یا V₄ و مرحله قبل از دانه‌بندی یا R₂) انجام شد. آبیاری در طول دوره رشد براساس شرایط محیطی و نیاز گیاه زراعی انجام شد. کنترل علف‌های هرز در طول دوره رشد به روش دستی انجام گرفت. به منظور تعیین اثر تیمارها بر گره‌زایی و وزن خشک گره، در خطوط اصلی هر کرت تعداد سه الی چهار گلدان در نظر گرفته شد. تراکم کاشت در هر گلدان همانند تراکم دیگر خطوط کاشت در نظر گرفته شد. در مرحله گلدهی، ریشه‌ها به‌طور کامل جدا شده و پس از شستشوی آنها، تعداد و وزن خشک گره‌ها تعیین شد (۴۴).

به‌منظور بررسی پارامترهای مربوط به پر شدن دانه نظیر سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پر شدن دانه، تقریباً از ۲۰ روز بعد از گلدهی در فواصل زمانی هر چهار روز یک بار از خطوط اصلی هر کرت سه بوته به تصادف انتخاب و دانه‌ها از نیام جدا شدند. در مرحله بعدی وزن خشک تک بذر از محاسبه وزن خشک کل به تعداد بذر برآورد گردید (۴۰). به منظور برآورد، تجزیه و تحلیل و تفسیر عوامل مربوط به پر شدن دانه از یک مدل رگرسیون خطی (دو تکه‌ای) با استفاده از رویه DUD و دستورالعمل Proc NLIN نرم‌افزار SAS به‌صورت زیر استفاده گردید.

$$GW = \begin{cases} a + bt_0 & t < t_0 \\ a + bt & t > t_0 \end{cases} \quad (1)$$

در این رابطه GW وزن دانه، t زمان، b شیب خط تا مرحله رسیدگی وزنی که بیانگر سرعت پر شدن دانه است، t₀ پایان دوره پر شدن دانه و a عرض از مبدأ است. این مدل تغییرات وزن دانه نسبت به زمان را به دو مرحله تفکیک می‌کند: مرحله اول که در حقیقت مرحله خطی پر شدن دانه است، وزن دانه تا رسیدن به حداکثر مقادیر خود در زمان t₀ که در حقیقت زمان رسیدگی وزنی است، به‌صورت خطی افزایش پیدا می‌کند. شیب خط رگرسیون در این مرحله (t < t₀) سرعت پر شدن دانه را نشان می‌دهد (۱۸). با برازش این مدل بر کلیه داده‌ها ابتدا دو پارامتر مهم پر شدن دانه یعنی سرعت پر شدن دانه (b) و زمان رسیدگی وزنی (t₀) به‌دست آمده و سپس مقدار عددی t₀ در قسمت دوم رابطه قرار داده شد و GW که وزن دانه است محاسبه گردید. برای تعیین دوره مؤثر پر شدن دانه از رابطه (۲) استفاده شد (۱۸).

$$EFP = MGW / GFR \quad (2)$$

در این رابطه EFP دوره مؤثر پر شدن دانه، MGW حداکثر وزن دانه

البته بین ترکیب‌های تیماری محلول‌پاشی با مقادیر بالای نانوآکسید روی در تلقیح بذر با رایزوبیوم + سودوموناس + آزوسپریلیوم و همچنین در تلقیح بذر با رایزوبیوم و سودوموناس اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نگردید (جدول ۵). مرشدی (۳۰) گزارش کرد که محلول‌پاشی آهن و روی منجر به افزایش عملکرد و اجزای عملکرد می‌شود. اسدی کنکر شاهی و ملکوتی (۷) مشاهده کردند که مصرف ۴۰ کیلوگرم در هکتار سولفات روی، عملکرد دانه سویا را تا ۱۹ درصد، وزن هزار دانه، تعداد دانه در بوته و درصد پروتئین دانه را به ترتیب ۸/۲، ۵/۷ و ۱۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. زهیر و همکاران (۶۰) اظهار داشتند که در اثر تلقیح بذرهای ذرت (*Zea mays* L.) با ازتوباکتر و سودوموناس، وزن هزار دانه به میزان ۹/۶ درصد افزایش یافت. مظاهری نیا و همکاران (۲۷) در آزمایش گلخانه‌ای گزارش نمودند که کاربرد نانوآکسید آهن نسبت به آهن معمولی، از افزایش معنی‌داری بر وزن هزار دانه و تعداد دانه در سنبله گندم (*Triticum aestivum* L.) برخوردار بود و علت را به سرعت جذب و انتقال ذرات نانو آهن در مقایسه با فرم معمولی آن نسبت دادند.

تعداد دانه در نیام: نتایج نشان داد که تعداد دانه در نیام تحت تأثیر فاکتورهای مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). گرچه به نظر می‌رسد این صفت بیشتر تابع عوامل ژنتیکی بوده و کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد ولی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر تعداد دانه در نیام (۳/۰۸) در مقادیر بالای نانوآکسید روی و کمترین آن (۲/۴۰۷) در حالت عدم مصرف روی به دست آمد. همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد دانه در نیام (۳/۲۸) در تلقیح توأم بذر با رایزوبیوم و باکتری‌های محرک رشدی و کمترین آن (۲/۲۹) در حالت عدم تلقیح بذر به دست آمد (جدول ۴). این نتایج با نتایج برخی از محققان مبنی بر تأثیرپذیری تعداد دانه در نیام از میزان کود مصرفی (۵) و تلقیح بذر با باکتری (۲) همخوانی داشت.

تعداد نیام در بوته: همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده است تیمارهای مورد بررسی اثر معنی‌داری بر تعداد کل نیام در هر بوته داشتند. بالاترین تعداد نیام در هر بوته (۲۳/۲۳) نیام در بوته در بالاترین سطح از مصرف نانوآکسید روی و کمترین آن (۱۷/۹۶) نیام در بوته در حالت عدم محلول‌پاشی به دست آمد (جدول ۴). مرشدی (۳۰) گزارش کرد که محلول‌پاشی آهن و روی (در دو مرحله یکی قبل از مرحله ساقه روی و دوم دو هفته بعد از محلول‌پاشی نوبت اول و قبل از گلدهی) موجب افزایش تعداد دانه در نیام، تعداد نیام در بوته و افزایش عملکرد دانه گردید. اسدی کنکر شاهی و ملکوتی (۷) مشاهده کردند که مصرف ۴۰ کیلوگرم سولفات روی در هکتار، عملکرد دانه و تعداد نیام در بوته سویا را نسبت به شاهد افزایش داد.

کردند. به نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشدی با افزایش قابلیت دسترسی به آب و عناصر غذایی ضروری گیاه از طریق افزایش طول میانگره‌ها، ارتفاع گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اولگر و همکاران (۳۳) معتقدند باکتری‌های محرک رشد می‌توانند ارتفاع بوته و قابلیت تولید را از طریق سنتز فیتوهورمون‌ها، افزایش فراهمی مواد غذایی در یک محل، آسان کردن جذب مواد غذایی، کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان، جلوگیری از عوامل بیماری‌زا و القا مقاومت سیستماتیک با عوامل بیماری‌زا افزایش دهند (۱۰). لیو و همکاران (۲۳) دلیل اصلی افزایش عملکرد، اجزای عملکرد و برخی دیگر از صفات مرتبط نظیر ارتفاع بوته را در کاربرد ترکیبی نانوآکسید سیلیس و نانوآکسید تیتانیوم، به افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و افزایش توانایی در جذب و استفاده از آب و کود نسبت دادند.

تعداد و وزن گره در بوته: تعداد و وزن خشک گره‌ها در هر بوته به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۳). با افزایش مصرف نانوآکسید روی وزن خشک گره افزایش یافت. روند مشابهی نیز در حالت تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد به دست آمد (جدول ۴). بیشترین تعداد گره در هر بوته (۱۶/۵۵ عدد) در محلول‌پاشی با مقادیر بالای نانوآکسید روی در تلقیح بذر با باکتری‌های رایزوبیومی و محرک رشدی و کمترین آن (۷/۹۴ عدد) در حالت عدم مصرف کود و عدم تلقیح بذر برآورد گردید (جدول ۴). حفیظ و شاه (۲۰) در بررسی میزان گره‌بندی ارقام عدس (*Lens culinaris*) توسط سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم نشان دادند که سویه‌های باکتری اثر معنی‌داری بر تعداد و وزن خشک گره نشان دادند. وسی و باس (۵۶) معتقدند تأثیر مواد تنظیم‌کننده رشد تولید شده به‌وسیله PGPR بر رشد ریشه لگوم‌ها از طریق پارامترهایی بروز می‌کند که مهم‌ترین آن‌ها افزایش وزن و انشعابات ریشه و افزایش تعداد گره می‌باشند. اکامبردیوا (۱۷) در آزمایشی بر روی نخود گزارش کرد که رشد ریشه و بخش هوایی و نیز میزان گره‌بندی نخود در حضور باکتری رایزوبیوم مناسب افزایش می‌یابد. بگوم و همکاران (۸)، آگو و شولز (۱) نیز نتایج مشابهی را در مورد تعداد و وزن خشک گره‌ها تحت تأثیر تلقیح با باکتری رایزوبیوم در نخود گزارش کردند. در آزمایش پیوندی و همکاران (۳۵) مصرف یک کیلوگرم در هکتار کلات آهن به شکل نانو در مقایسه با شکل معمول آن، به نسبت بیشتری وزن خشک اندام هوایی و طول ریشه گیاه ریحان را افزایش داد.

وزن صد دانه: وزن صد دانه تحت تأثیر محلول‌پاشی و باکتری‌های محرک رشد قرار گرفت (جدول ۳). بیش‌ترین وزن صد دانه در محلول‌پاشی ۰/۹ گرم در لیتر نانوآکسید روی و تلقیح بذر با رایزوبیوم + سودوموناس + آزوسپریلیوم (۱۸/۳ گرم) و کمترین آن (۱۲/۷ گرم) در حالت عدم محلول‌پاشی و عدم تلقیح بذر به دست آمد.

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR and Rhizobium on yield and some agronomic traits of soybean

منابع تغییر	درجه آزادی Df	میانگین مربعات M.S									
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد گره The number of nodule	گره خشک Dry weight of nodule	وزن بوته The number of pod per plant	تعداد نیام در بوته The number of grain per pod	وزن صد دانه seed 100 weight	عملکرد دانه Grain yield	طول دوره پر شدن دانه Grain filling period	سرعت پر شدن دانه Grain filling rate	دوره موثر پر شدن دانه Effective grain filling period
تکرار Replication	2	5019.95**	366.84**	79.26**	5605.65**	7.24**	246.64**	434694.9**	291.606**	0.00000019**	17.303**
نانو اکسید روی Nano-Zinc oxide	3	1232.1**	100.36**	13.68**	78.21**	1.23**	25.67**	533993.3**	142.174**	0.00000035**	1763.64**
تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و رایزوبیومی Seed inoculation with PGPR and Rhizobium	4	137.77**	23.23**	20.49**	98.52**	1.67**	17.17**	238861.5**	14.11**	0.00000018**	208.84**
نانو اکسید روی × تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و رایزوبیومی Nano-Zinc oxide × Seed inoculation with PGPR and Rhizobium	12	8.94*	1.52*	0.267 ^{ns}	0.827 ^{ns}	0.0046 ^{ns}	0.337**	1029.3*	16**	0.00000042**	21.19**
خطای آزمایشی Error	38	4.01	0.85	0.421	7.59	0.009	0.129	450.83	2.15	0.000000023	3.005

ns, * and ** show no significant and significant differences at 0.05, 0.01 probability level, respectively
 ns غیر معنی دار، * و ** پدیده‌های معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و ریزوبیومی بر وزن خشک گره، تعداد نیام و تعداد دانه در نیام سویا

Table 4- Mean comparison of effects of nano zinc oxide and seed inoculation with PGPR and rhizobium on dry weight of nodule, the number of pod and the number of grain per pod of soybean

فاکتورهای مورد بررسی Treatment studied	وزن خشک گره (mg) Dry weight of nodule	تعداد نیام در بوته The number of pod per plant	تعداد دانه در نیام The number of grain per pod
سطوح نانو اکسید روی (گرم در لیتر) Nano-Zinc oxide ($g\ l^{-1}$)			
عدم مصرف کود Without Nano-Zinc oxide	6.07	17.96	2.407
0.3	7.93	19.23	2.59
0.6	9.03	20.91	2.76
0.9	9.05	23.23	3.08
LSD 5%	0.48	3.03	0.0702
تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و ریزوبیومی Seed inoculation with PGPR and Rhizobium			
عدم تلقیح بذر Without seed inoculation	6.47	16.304	2.29
تلقیح با ریزوبیوم Seed inoculation with rhizobium	7.62	19.27	2.52
تلقیح توأم با ریزوبیوم و آزوسپریلیوم Seed inoculation with azospirillum and rhizobium	8.33	20.52	2.65
تلقیح توأم بذر با ریزوبیوم و سودوموناس Seed inoculation with psedomonas and rhizobium	9.09	21.94	2.8
تلقیح بذر با ریزوبیوم + سودوموناس + آزوسپریلیوم Seed inoculation with rhizobium, psedomonas and rhizobium	9.85	23.92	3.28
LSD 5%	0.536	2.27	0.0784

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند
Means with similar letters in each column are not significantly different

نسبت دادند که در نهایت منجر به بهبود عملکرد و اجزای عملکرد می‌شود.

عملکرد دانه: مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عملکرد دانه از ۱۱۱۰ کیلوگرم در هکتار در حالت عدم تلقیح و عدم مصرف کود تا ۱۸۷۵ کیلوگرم در هکتار در بالاترین سطح از محلول‌پاشی با نانو اکسید روی در تلقیح توأم بذر با باکتری‌های محرک رشدی و ریزوبیومی در نوسان بود (جدول ۵). تاندون (۵۱) افزایش عملکرد گندم بر اثر مصرف روی، آهن و منگنز را به ترتیب ۸۶۰، ۷۸۰ و ۵۴۰ کیلوگرم در هکتار گزارش کرد. چاک ماک و همکاران (۱۱) با مصرف ۲۳ کیلوگرم کود حاوی روی، افزایش معنی‌داری را در عملکرد دانه گندم گزارش کردند. روئستی و همکاران (۳۹) اظهار داشتند که باکتری‌های افزاینده رشد به وسیله ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل دسترس ساختن آن‌ها، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند. عرب و همکاران (۶) تولید فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین توسط باکتری آزوسپریلیوم را، یکی از دلایل افزایش عملکرد گیاهان تلقیح شده با باکتری آزوسپریلیوم عنوان کردند.

تلقیح سبب افزایش معنی‌داری در تعداد نیام در هر بوته شد، به طوری که بالاترین تعداد نیام در بوته (۲۳/۹۲ عدد) از تلقیح بذر با باکتری‌های ریزوبیوم، آزوسپریلیوم و سودوموناس و کمترین آن (۱۶/۳۴ عدد) در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری برآورد گردید (جدول ۴). افزایش تعداد نیام در شرایط تلقیح با باکتری ریزوبیوم می‌تواند به دلیل تأمین مواد غذایی بیشتر و در نتیجه رشد بهتر گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده باشد (۵۸). آلبایراک و همکاران (۳) در مطالعه‌ای بر روی ماشک (*Vicia sativa* L.) بیان کردند که تلقیح بذر با باکتری‌ها سبب افزایش تعداد نیام در بوته در مقایسه با عدم تلقیح با باکتری می‌شود. احمد و همکاران (۲) گزارش کردند که تعداد نیام در بوته‌های تلقیح شده به طور معنی‌داری بالاتر از بوته‌های تلقیح نشده بود. در آزمایش پراساد و همکاران (۳۶) محلول‌پاشی نانو اکسید روی به مقدار دو گرم در ۱۵ لیتر آب موجب افزایش تعداد نیام در بوته، وزن هزار دانه و غلظت روی در برگ و دانه بادام زمینی در مقایسه با محلول‌پاشی این کود به فرم معمول و با غلظت ۳۰ گرم در ۱۵ لیتر شد. صالحی و طهماسبی (۴۳) برتری ذرات نانو را به حالیت بیشتر، سبک و کوچک بودن و شانس برخورد بیشتر این ذرات با گیاه

جدول ۵ - مقایسه میانگین اثر نانو اکسید روی × تلقیح بذر با باکتری های PGPR و ریزوبیومی بر عملکرد، ارتفاع بوته، تعداد گره در بوته و وزن صد دانه سویا
 Table 5- Mean comparison of effects of nano zinc oxide and seed inoculation with PGPR and rhizobium on grain yield, plant height, the number of nodule per plant and grain 100 weight of soybean

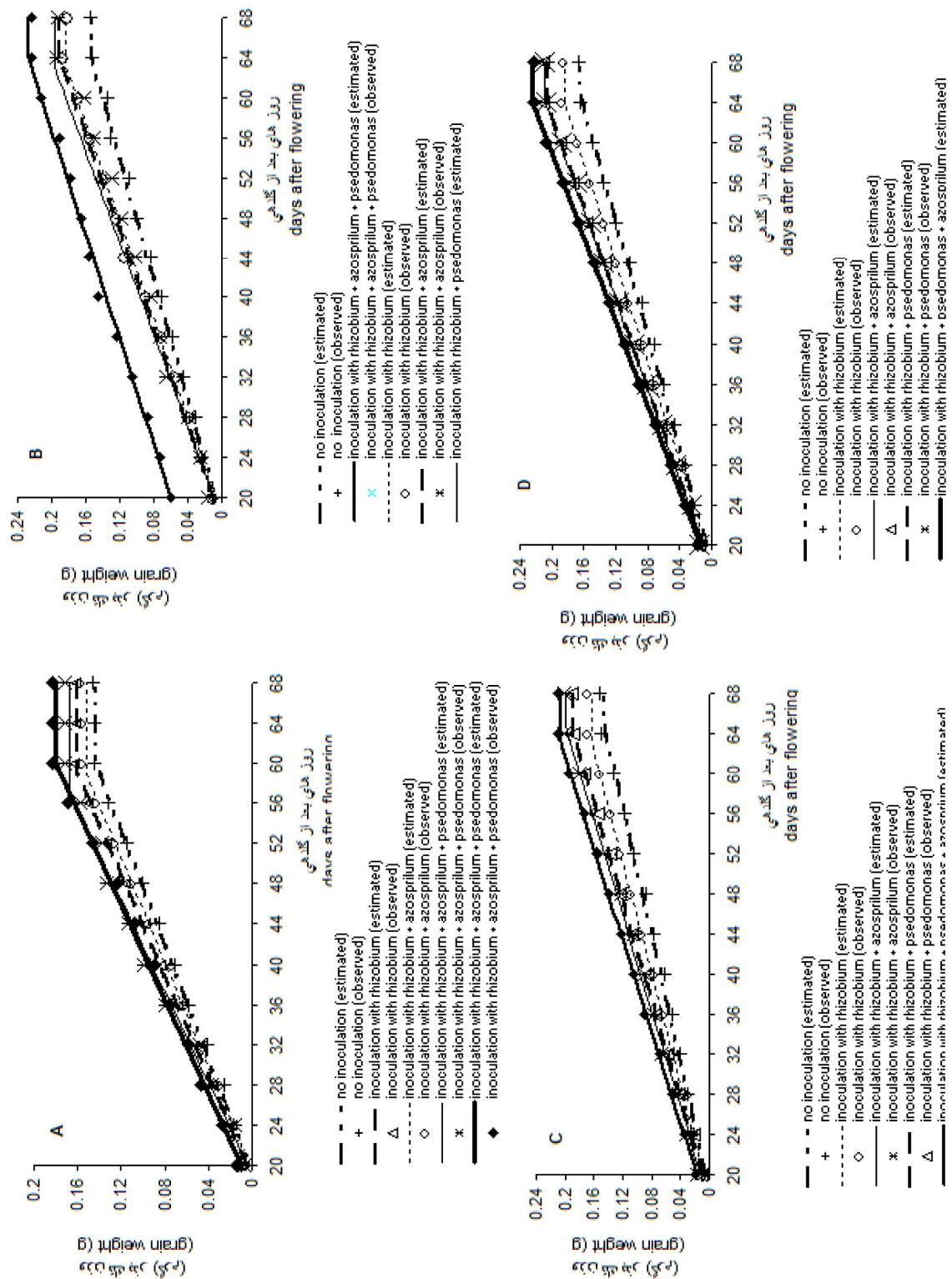
سطوح نانو اکسید روی (گرم در لیتر) nano zinc oxide (g.lit ⁻¹)	باکتری های محرک رشد PGPR	ارتفاع بوته (cm) Plant height	تعداد گره The number of nodule	وزن صد دانه (g) Grain 100 weight	عملکرد دانه Grain yield (kg ha ⁻¹)
عدم مصرف کود Without fertilizer	No inoculation	52.11 i	7.42 k	12.7 k	1110 m
	Inoculation by rhizobium	54.93 hi	8.32 kj	13.21 k	1210 l
	Inoculation by rhizobium+Azospirillum	57.03 gh	9.9 i	13.91 j	1290 k
	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas	61.06 ef	10.53 hi	15.12 i	1350 j
0.3 گرم در لیتر 0.3 g.lit ⁻¹	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas+Azospirillum	63.22 e	11.73 gh	15.75 gh	1410 i
	No inoculation	59 fg	9.03 ij	14.23 j	1185 l
	Inoculation by rhizobium	63.42 e	10.03 i	14.94 i	1300 k
	Inoculation by rhizobium+Azospirillum	67.55 d	10.03 i	15.75 gh	1390.6 i
0.6 گرم در لیتر 0.6 g.lit ⁻¹	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas	69.81 d	12.24 fg	16.47 def	1478 h
	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas+Azospirillum	70.6 d	14.34 cde	17.05 cd	1560 fg
	No inoculation	70.8 d	12.84 efg	14.23 j	1320 jk
	Inoculation by rhizobium	74.35 c	13.24 defg	15.25 hi	1452 h
0.9 گرم در لیتر 0.9 g.lit ⁻¹	Inoculation by rhizobium+Azospirillum	75.61 bc	13.29 def	16.01 fg	1574 ef
	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas	77.68 abc	14.61 bcd	17.39 bc	1610 d
	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas+Azospirillum	77.19 abc	14.64 bcd	18.12 a	1725 c
	No inoculation	74.73 c	14.04 cde	16.26 efg	1525 g
عدم تلقیح بذر با باکتری No inoculation	Inoculation by rhizobium	76.602 abc	14.82 bc	16.74 de	1607 de
	Inoculation by rhizobium+Azospirillum	78.66 ab	15.35 abc	17.38 bc	1720 c
	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas	79.65 a	16.05 ab	17.78 ab	1800 b
	Inoculation by rhizobium+Pseudomonas+Azospirillum	77.68 abc	16.55 a	18.3 a	1875 a

میانگین های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری با هم ندارند
 Means with similar letters in each column are not significantly different

روی، از نظر دوره‌ی مؤثر پر شدن، سرعت و طول دوره‌ی پر شدن دانه تفاوت‌هایی وجود دارد. به عبارت دیگر شیب خط برازش شده یا سرعت پر شدن دانه در تلقیح بذر با باکتری‌ها یکسان نبود که حاکی از تفاوت در سرعت پر شدن دانه در تیمارهای مختلف از مصرف نانو اکسید روی می‌باشد. به طوری که در حالت عدم مصرف کود، وزن تک بذر کمترین و در بالاترین سطح کودی بیشترین مقدار آن برآورد گردید (شکل ۲). به نظر می‌رسد با افزایش کود مصرفی، به دلیل افزایش میزان اسیمیلیسیون و نقل و انتقال مواد به دانه، پر شدن دانه افزایش می‌یابد. وزن نهایی دانه نتیجه‌ی رشد دانه در طول دوره‌ی خطی یا دوره‌ی مؤثر پر شدن دانه است و فراهمی اسیمیلات‌ها یک عامل مهم برای دوره‌ی مؤثر پر شدن دانه محسوب می‌شود (۱۴). طول دوره‌ی مؤثر پر شدن دانه نیز در مقادیر مختلف از مصرف نانو اکسید روی و در تلقیح با باکتری‌های محرک رشد متفاوت بود، به طوری که با افزایش مصرف کود، طول دوره‌ی مؤثر پر شدن دانه نیز افزایش یافت. همچنین تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد نسبت به عدم تلقیح بذر موجب افزایش طول دوره‌ی مؤثر پر شدن دانه گردید. حداکثر طول دوره‌ی پر شدن دانه (۶۶/۹۴ روز) در ترکیب تیماری مصرف ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی و در تلقیح توأم بذر با باکتری‌های محرک رشدی و رایزوبیومی و حداقل طول این دوره (۵۷/۹۹ روز) در عدم مصرف نانو اکسید روی و عدم تلقیح بذر برآورد گردید (جدول ۶). چو و همکاران (۱۳) بالا بودن سرعت پر شدن دانه را در بوته‌هایی گزارش کردند که کود را به صورت سرک دریافت کرده بودند. تسونو و همکاران (۵۳) اظهار داشتند که مصرف کود در طول دوره‌ی رشد به‌ویژه دوره‌ی پر شدن دانه موجب بالا نگه داشتن میزان کلروفیل برگ‌های بالایی و تأخیر در پیری برگ می‌گردد و نانو کودها می‌توانند با کمک به قابلیت تنظیم و رهاسازی آهسته و مداوم عناصر غذایی (۲۲)، موجب افزایش میزان مواد فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز در اندام‌های فتوسنتز کننده و افزایش وزن دانه می‌گردد. مظاهری نیا و همکاران (۲۷) اظهار داشتند که نانو اکسید آهن در مقایسه با آهن معمولی، در افزایش وزن دانه در سنبله گندم از برتری قابل توجهی برخوردار بود. نتایج نشان داد که طول دوره‌ی مؤثر پر شدن دانه با افزایش کود مصرفی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و رایزوبیومی افزایش یافت (جدول ۶). حداکثر طول این دوره (۵۴/۶۵ روز) به ترکیب تیماری مصرف ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی و در تلقیح بذر با رایزوبیوم و آزوسپریلیوم و حداقل طول این دوره (۳۶/۹۷ روز) به عدم مصرف کود و عدم تلقیح بذر تعلق داشت. نتیجه اینک، ترکیب تیماری ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی در تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی و رایزوبیومی از حداکثر شیب (۰/۰۴۷۶) و ترکیب تیماری عدم مصرف کود و عدم تلقیح بذر از حداقل شیب (۰/۰۳۱۴) برخوردار بود. گی و همکاران (۱۹) نیز حداکثر وزن دانه را به رابطه بین سرعت و طول دوره پر شدن دانه نسبت دادند.

شربواستوا و همکاران (۴۶) گزارش کردند که تلقیح با رایزوبیوم سبب افزایش ۸/۶ درصدی در عملکرد سویا در مقایسه با کاربرد معمول کود شد. دشتی و همکاران (۱۵) بیان کردند که میزان تثبیت نیتروژن به دلیل اثر مثبت حضور باکتری رایزوبیوم جاپونیکوم بر تعداد و وزن گره‌های فعال تثبیت کننده نیتروژن در تیمارهای تلقیح شده سویا، افزایش معنی‌داری نشان داد. آلبایراک و همکاران (۳) در مطالعه‌ای بر روی ماشک به این نتیجه رسیدند که تلقیح سبب افزایش ۸/۵ درصدی عملکرد بیولوژیکی و ۷/۶ درصدی عملکرد دانه در مقایسه با عدم تلقیح با باکتری شد. نتایج مشابهی توسط مالیک و همکاران (۲۵) در سویا گزارش شده است. این محققان افزایش در میزان رشد و عملکرد را به افزایش تأمین عناصر غذایی در طی دوره رشد به واسطه تلقیح بذر با رایزوبیوم نسبت دادند. پاندى و همکاران (۳۴) علت اصلی افزایش عملکرد نخود را به واسطه مصرف نانو اکسید روی، به افزایش سطح ایندول استیک اسید در ریشه نسبت دادند. مونیکا و کریمونیلینی (۲۹) اثرگذاری بیشتر ذرات نانو را در مقایسه با فرم متداول آن، به سطح مخصوص، سرعت بالای جذب و انتقال نسبت دادند. لیو و همکاران (۲۳) دلیل اصلی افزایش عملکرد در کاربرد ترکیبی نانو اکسید سیلیس و نانو اکسید تیتانیوم را به افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و افزایش توانایی گیاه در جذب و استفاده از آب و کود نسبت دادند.

طول دوره پر شدن دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و رایزوبیومی بر سرعت و طول دوره پر شدن دانه سویا نشان داد که اثر نانو اکسید روی، تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی و رایزوبیومی و اثر ترکیب تیماری این دو عامل بر سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پر شدن دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). روند پر شدن دانه سویا متأثر از نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR و رایزوبیومی در شکل ۲ نشان داد که در سطح ثابت از محلول پاشی با نانو اکسید روی و در سطوح مختلف تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و رایزوبیومی، الگوی نمو بذر در ابتدا در حالت عدم تلقیح و تلقیح بذر با کلبه‌ی باکتری‌های محرک رشد و رایزوبیومی مشابه است. بدین ترتیب که ابتدا وزن دانه به صورت خطی افزایش یافته و به حداکثر خود رسید. پس از این مرحله وزن دانه تغییرات محسوسی نداشته و به صورت یک خط افقی درآمد. در واقع رشد دانه شامل سه مرحله متمایز کند، خطی و کند ثانویه یا رسیدگی می‌باشد (۵۴). از آنجایی که قسمت اعظم رشد دانه در مرحله رشد خطی تشکیل می‌گردد، مطالعه روند رشد دانه معمولاً به بررسی سرعت و مدت رشد دانه در این مرحله اختصاص پیدا می‌کند. براساس نتایج به دست آمده مشخص گردید که در تمامی ترکیب‌های تیماری، بین باکتری‌های محرک رشد در سطوح ثابت از مصرف نانو اکسید



شکل ۲- روند تغییرات سرعت پر شدن دانه سویا در سطوح مختلف تلقیح بذر با باکتری‌های رایزوبیومی و محرک رشدی در حالت عدم مصرف (A)، مصرف ۰/۳ (B)، ۰/۶ (C) و ۰/۹ گرم در لیتر (D) نانو اکسید روی

Figure 2- variation trend of grain filling rate of soybean at various levels of seed inoculation with rhizobium and PGPR, without nano zinc oxide (A), application of 0.3 (B), 0.6 (C) and 0.9 g.lit⁻¹ of nano zinc oxide (D)

نتیجه گیری

محللول پاشی با نانو اکسید روی روشی مناسب برای افزایش عملکرد سویا است. از این رو به منظور افزایش عملکرد دانه، شاخص‌های رشدی، تعداد و وزن گره در بوته می‌توان پیشنهاد نمود که ۰/۹ گرم در لیتر نانو اکسید روی در تلقیح توأم بذر سویا با باکتری‌های محرک رشد و ریزوبیومی به کار برده شود.

در این بررسی عملکرد و اجزای عملکرد سویا تحت تأثیر مقادیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی و ریزوبیومی قرار گرفتند، به طوری که بالاترین عملکرد، تعداد و وزن خشک گره در هر بوته در سطوح بالای مصرف نانو اکسید روی و تلقیح با باکتری‌ها به دست آمد. به نظر می‌رسد استفاده از کودهای بیولوژیک و

References

- Adgo, E., and Schulze, J. 2002. Nitrogen fixation and assimilation efficiency in Ethiopian and German pea varieties. *Plant and Soil* 239: 291-299.
- Ahmed, R., Solaiman, M. A., Halder, M., Siddiky, N. K., and Islam, M. S. 2007. Effect of inoculation methods of Rhizobium on yield attributes, yield and protein content in seed of pea. *Journal of Soil Science* 1 (3): 30-35.
- Albayrak, S., Sevimay, C. S., and Tongel, O. 2006. Effect of inoculation with rhizobium on seed yield and yield components of common vetch (*Vicia sativa* L.). *Turkish Journal of Agricultural Forestry* 30: 31-37.
- Alvaro, F., Isidro, J., Villegas, D., Corcia del mora, L. F., and Royo, C. 2008. Effect of breeding on grain filling, biomass partitioning, and remobilization in mediterranean durum (*Triticum turgidum* L. Var. Durum). *Central European Journal of Biology* 3 (1): 75-82.
- Amany, A. B. 2007. Effect of plant density and urea foliar application on yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Science* 3 (4): 220-223.
- Arab, S. M., Akbari, G. A., Alikhani, H. A., Arzanesh, M., and Dady, A. 2007. Study of the ability of auxin production by bacteria isolated genus *Azospirillum* and evaluation of the effects of growth promoting of top strain on sweet corn. *Iranian Journal of Field Crops Research* 6 (2): 217-225.
- Asadi Kangar, A., and Malakoti, M. J. 2002. Determine the critical level of zinc by method of Kate Nelson and Mitscherlich for soybean under field conditions. *Eighth Congress of Soil Science*. Rasht, Iran.
- Begum, A. A., Leibovitch, S., Migner, P., and Zhang, F. 2001. Inoculation of pea (*Pisum sativum* L.) by Rhizobium leguminosarum bv. viciae pre incubated with naringenin and hesperetin or application of naringenin and hesperetin directly into soil increased pea nodulation under short season conditions. *Plant and Soil* 237: 71-80.
- Brdar, M. D., Kraljevic-Balalic Marija, M., and Borislav, D. 2008. The parameters of grain filling and yield components in common wheat (*Triticum aestivum* L.) and durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var. Durum). *Central European Journal of Biology* 3 (1): 75-82.
- Burd, G. I., Dixon, D. G., and Glick, B. R. 2000. Plant Growth Promoting Rhizobacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 237-245.
- Cakmak, I., Yilmaz, A. M., Kalayci, H., Ekiz, B., Torun, B. H., Erenoglu, J., and Braun, L. 1996. Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in central Anatolia. *Plant and Soil* 180: 165-172.
- Cakmakci, R. I., Donmez, M. F., and Erdogan, U. 2007a. The effect of Plant Growth Promoting rhizobacteria on barely seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. *Turkish Journal of Agricultural* 31: 189-199.
- Cho, D. S., Jong, S. K., Park, Y. K., and Son, S. Y. 1987. Studies on the duration and rate of grain filling in rice (*Oryza sativa* L.). I. Varietal difference and effects of nitrogen. *Korean Journal of Crop Science* 32 (1): 103-111.
- Cirilo, A. G., and Andrade, F. H. 1996. Sowing date and kernel weight in maize. *Crop Science* 36: 325-331.
- Dashti, N., Zhang, F., Rynes, H., and Smith, D. L. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean (*Glycine max* L.) under short season conditions. *Plant and Soil* 200: 205-213.
- Dileep Kumar, S. B., Berggren, I., and Martensson, A. M. 2001. Potential for improving pea production by coinoculation with Fluorescent Pseudomonas and Rhizobium. *Plant and Soil* 229 (1): 25-34.
- Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil and Ecology* 36: 184.
- Ellis, R. H., and Pieta-Filho, C. 1992. The development of seed quality in spring and winter cultivars of barley and wheat. *Seed Science Research* 2: 19-25.
- Gay, S. D., Egli, B., and Reicosky, D. A. 1980. Physiological aspects of yield components in soybeans. *Agron Journal* 72: 387-391.
- Hafeez, F. Y., Shah, H., and Malik, K. A. 2000. Field evaluation of lentil cultivars inoculated with rhizobium leguminosarum bv. viciae strains for nitrogen fixation using nitrogen-15-isotope dilution. *Biology and Fertility of Soils* 31: 65-69.

21. Khoshgoftarmanesh, A. H. 2002. Principles of Plant Nutrition. Isfahan University of Technology Press. 462 pp. (in Persian).
22. Liu, X., Feng, Z., Zhang, S., Zhang, J., Xiao, Q., and Wang, Y. 2006. Preparation and testing of cementing nano-subnano composites of slower controlled release of fertilizers. *Agriculture Sciences* 39: 1598-1604.
23. Lu, C. M., Zhang, C. Y., Wu, J. Q., and Tao, M. X. 2002. Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. *Soybean Sciences* 21: 168-172.
24. Malakoti, M. H., and Tehrani, M. M. 2008. The role of microelements in increasing of yield and improve the quality of agricultural products. Agricultural Education press. 176 PP.
25. Malik, M. A., Cheema, M. A., and Khan, H. Z. 2006. Growth and yield response of soybean (*Glycine max* L.) to seed inoculation and varying phosphorus levels. *Journal of Agricultural Research* 44 (1): 47-53.
26. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second edition. Academic Press. New York. 890 PP.
27. Mazaherinia, S., Astarai, A. R., Fotovat, A., and Monshi, A. 2010. Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. *World Applied Sciences Journal* 7 (1): 36-40.
28. Mohamad, W., Iqbal, M., and Shal, S. M. 1990. Effect of mode of application of zinc and iron on yield of wheat. *Journal of Agriculture* 6 (6): 615-618.
29. Monica, R. C., and Cremonini, R. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 62: 161-165.
30. Morshedi, A. 2000. Study of the effects of foliar application iron and zinc on yield and quality traits of canola (*Brassica napus* L.) seeds. Master Thesis of Soil Science, faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares. 89 pp.
31. Naderi, M. R., and Abedi, A. 2012. Application of nanotechnology in agriculture and refinement of environmental pollutants. *Nanotechnology Journal* 11 (1): 18-26. (in Persian with English abstract).
32. Ogutcu, H., Algur, O. F., Elkoca, E., and Kantar, F. 2008. The determination of symbiotic effectiveness of Rhizobium strains isolated from wild chickpea collected from high altitudes in Erzurum. *Turkish Journal of Agricultural Forestry* 32: 241-248.
33. Olger, R., Bergman, J., and Read, K. 1997. Safflower seed yield and oil content as affected by water and nitrogen. *Fertilizer facts* 4: 14-17.
34. Pandey, A. C., Sanjay, S. S., and Yadav, R. S. 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum* L. *Journal of Experimental Nanoscience* 5: 488-497.
35. Peyvandi, M., Parande, H. and Mirza, M. 2011. Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum Basilicum*. *New Cell Molecular Biotechnology* 4: 89-99.
36. Prasad, T. N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscales Zinc Oxide on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition* 35: 905-927.
37. Raei, Y., Sedghi, M., and Seyed Sharifi, R. 2008. Effects of rhizobial inoculation, urea application and weed on growth and seed filling rate in soybean. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science* 12 (43): 8-91.
38. Rehm, G., and Echmitt, M. 2002. Zinc for crop production. Regents of the response to early season foliar fertilization among and within fields. *Agronomy Journal* 93.
39. Roesti, D., Gaur, R., Johri, B. N., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K., and Aragno, M. 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the Rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. *Soil of Biology and Biochemistry* 38: 1111-1120.
40. Ronanini, D., Savin, U., and Hall, R. 2004. Dynamic of fruit growth and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L) exposed to brief interval of high temperature during grain filling. *Field Crop Research* 83: 79-90.
41. Rose, I. A., Felton, W. L., and Banks, L. W. 2005. Responses of four soybean varieties to foliar zinc fertilizer. *Australian Journal of Experimental Agriculture and animal Husbandry* 3: 285-291.
42. Rudresh, D. L., Shivaprakash, M. K., and Prasad, R. D. 2005. Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and Trichoderma spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). *Applied Soil Ecological* 28: 139-146.
43. Salehi, M., and Tamaskoni, F. 2008. Effect nanocid at seed treatment on germination and seedling growth of wheat under salinity. *Seed Science and Technology* 2: 204-209.
44. Seiedi, M. N., and Seyed Sharifi, R. 2014. The effects of seed inoculation with rhizobium and nitrogen application on yield and some agronomic characteristics of soybean (*Glycine max* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 11 (4): 618-628. (in Persian with English abstract).
45. Seyed Sharifi, R. 2013. Industrial Plants. University of Mohaghegh Ardabili and Amidi press. Third edition. 107-133 pp. (in Persian).
46. Shrivastava, U. K., Rajput, R. L., and Dwivedi, M. L. 2000. Response of soybean-mustard cropping system to sulfur and bio-fertilizers on farmer's field. *Leguminose Research* 23: 277-278.
47. Sogut, T. 2006. Rhizobium inoculation improves yield and nitrogen accumulation in soybean (*Glycine max*) cultivars better than fertilizer. *New Zealand Journal of Crop and Horticulture Science* 34: 115-120.

48. Stancheva, I., Geneva, M., Zehirov, G., Tsvetkova, G., Hristozkova, M., and Georgiev, G. 2006. Effects of combined inoculation of pea plants with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium on nodule formation and nitrogen fixing activity. Genetic Applied and Plant Physiology. Special issue: 61-66.
49. Syverud, T. D., Walsh, L. M., Oplinger, E. S., and Kelling, K. A. 1980. Foliar fertilization of soybean (*Glycine max* L.). Communication Soil Science and Plant Nutrition 11: 637-651.
50. Takker, P. N., and Walker, C. D. 1993. The distribution and correction of zinc deficiency. pp. 151-165. In: Zinc in Soils and Plants. Ed: A.D. -Robson Kluwer Academic Publisher, Lordecht.
51. Tandon, H. L. S. 1995. Micronutrients in soils, crops and fertilizers. A sourcebook-cum- Directory. Fertilizers Development and Consultation Organization, New Dehli, India.
52. Togay, N., Togay, Y., Cimrin, K. M., and Turan, M. 2008. Effect of Rhizobium inoculation, sulfur and phosphorus application on yield, yield components and nutrient uptake in chick pea (*Cicer arietinum* L.). African Journal of Biotechnology 7 (6): 776-782.
53. Tsuno, Y., Yamaguchi, T., and Nakano, J. 1994. Potential dry matter production and grain filling process of rice plant from the viewpoint of source-sink relationships and the role of root respiration in its relationship. Crop Science 47: 1-10.
54. Vansan Ford, D. A. 1985. Variation in kernel growth characters among soft red winter wheat. American Society of Agronomy 25 (4): 626-630.
55. Varco, J. J. 1999. Nutrition and fertility requirements. Pp: 53-70. In: Heatherly, L.G., and Hodges, H.F. (Eds.) Soybean Production in the Mid-South. CRC Press, Boca Raton, FL.
56. Vessey, J. K., and Buss, T. J. 2002. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes. Controlled-environment studies. Canadian Journal of Plant Science 82: 282-290.
57. Welch, R. M. 2001. Impact of mineral nutrients in plants on human nutrition on a worldwide scale. Developments in Plant and Soil Sciences 92 (5): 284-285.
58. Wheat. Agronomy Journal 100: 361-370.
59. Wheats. Crop Science 25: 625-630.
60. Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., and Cheung, K. C. 2005. Effect of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a green house trial. Geoderma 125: 155-166.
61. Yang, F., Hong, F. S., You, W. J., Liu, C., Wu, C., and Yang, P. 2006. Influences of nanoanatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research 110: 179-190.
62. Zahir, A. Z., Arshad, M., and Khalid, A. 1998. Improving maize yield by inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. Pakistan Journal of Soil Science 15: 7-11.

Effects of Nano-Zinc oxide and Seed Inoculation by Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Yield, Yield Components and Grain Filling Period of Soybean (*Glycine max* L.)

R. Seyed Sharifi^{1*}- S. Khoramdel²

Received: 19-02-2014

Accepted: 19-01-2015

Introduction

Utilizing biological fertilizer is a proper and cheap method for crop production. Potentially, soybean can be used as biological fertilizers and seed inoculation. Zinc is an essential element that have positive effects on plant growth and its development. Canola, sunflower, soybean and safflower are the main cultivated oilseeds in Iran. Soybean production in Iran is very low as compared to other countries. One of the most effective factor in increasing the soybean yield is seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and application of Zinc fertilizer. Some of the benefits provided by PGPR are the ability to produce gibberellic acid, cytokinins and ethylene, N₂ fixation, solubilization of mineral phosphates and other nutrients (56). Numerous studies have shown a substantial increase in dry matter accumulation and seed yield following inoculation with PGPR. Seyed Sharifi (45) reported that seed inoculation with *Azotobacter chroococcum* strain 5 increased all of the growth indices such as total dry matter, crop growth rate and relative growth rate. Increasing and extending the role of biofertilizers such as *Rhizobium* can reduce the need for chemical fertilizers and decrease adverse environmental effects. Therefore, in the development and implementation of sustainable agricultural techniques, biofertilization has great importance in alleviating environmental pollution and deterioration of the nature. As a legume, soybean can obtain a significant portion (4-85%) of its nitrogen requirement through symbiotic N₂ fixation when grown in association with effective and compatible *Rhizobium* strains. Since there is little available information on nano-zinc oxide and seed inoculation by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield in the agro-ecological growing zones of Ardabil province of Iran. Therefore, this research was conducted to investigate the effects of nano-zinc oxide and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria application on yield, yield components and grain filling period of soybean.

Materials and Methods

In order to study the effects of Nano-Zinc oxide and seed inoculation with Brady rhizobium and plant growth promoting rhizobacteria on yield and some agronomic characteristics of soybean, a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications was conducted in 2013 at the research farm of the Islamic Azad University, Ardabil Branch. Factors were included foliar application of Nano-Zinc oxide at four levels (Zero as control, 0.3, 0.6 and 0.9 g l⁻¹) and seed inoculation with Brady rhizobium and plant growth promoting rhizobacteria at five levels (without inoculation as control, seed inoculation with Brady rhizobium japonicum, seed inoculation with Brady rhizobium japonicum+Azosprillum lipoferum strain OF, seed inoculation with Brady rhizobium japonicum+Pseudomonas putida, seed inoculation with Brady rhizobium japonicum+ Azosprillum lipoferum strain OF+ Pseudomonas putida).

Results and Discussion

The results of growth indices showed that the maximum total dry matter (530 g m⁻²), crop growth rate (9.48 g.m⁻².day⁻¹) and relative growth rate (0.1 g.g⁻¹.day⁻¹) were obtained at foliar application of 0.9 g l⁻¹ Nano-Zinc oxide×seed inoculation with rhizobium+Azosprillum+ Pseudomonas and the least of these indices were obtained without of foliar application Nano-Zinc oxide × seed inoculation. The results showed that plant height, the number of nodules per plant, the number of pod per plant, grain yield and grain 100 weight were significantly affected by Nano-Zinc oxide, seed inoculation and interaction of Nano-Zinc oxide×seed inoculation. Maximum of plant height, grain 100 weight, the number of nodules per plant and grain yield were obtained at foliar

1- Associate Professor of College of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Assistant Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

(*- Corresponding Author Email: Raouf_ssharifi@Yahoo.com)

application of 0.9 g l⁻¹ of Nano-Zinc oxide×seed inoculation with rhizobium and PGPR. Dry weight of nodules per plant, the number of pod per plant and the number of grains per plant increased by increasing of Nano-Zinc oxide application. Similar results were obtained in seed inoculation with rhizobium+PGPR. In order to increase the grain yield, growth indices and some agronomic characteristics of soybean, it is suggested to apply 0.9 g l⁻¹ of Nano-Zinc oxide and at seed inoculation with rhizobium and PGPR.

Conclusions

Based on the results, it was concluded that application of 0.9 g l⁻¹ of Nano-Zinc oxide and at seed inoculation with rhizobium and PGPR can be recommended for profitable soybean production in the study area.

Keywords: PGPR, Seed inoculation, Soybean, Zinc oxide nanoparticles